

**VYSOKÁ ŠKOLA BÁŇSKÁ – TECHNICKÁ UNIVERZITA
OSTRAVA**

Hornicko – geologická fakulta
Institut environmentálního inženýrství

Železité bakterie

Iron Bacteria

Diplomová práce

Autor:
Vedoucí diplomové práce:

Bc. Jana Motáková
Mgr. Hana Vojtková, Ph.D.

Ostrava 2012

VŠB - Technická univerzita Ostrava
Hornicko-geologická fakulta
Institut environmentálního inženýrství

Zadání diplomové práce

Student: **Bc. Jana Motáková**
Studijní program: N2102 Nerostné suroviny
Studijní obor: 3904T029 Minerální biotechnologie
Téma: **Železité bakterie**
Iron Bacteria

Zásady pro vypracování:

1. Úvod a cíl práce
2. Morfologie a fyziologie železitých bakterií
3. Význam železitých bakterií
4. Přehled nejdůležitějších taxonů železitých bakterií
5. Experimentální část práce
6. Závěr

Seznam doporučené odborné literatury:

BREUKER, Anja et al. Diversity of Iron Oxidizing Bacteria from Various Sulfidic Mine Waste Dumps. *Advanced Materials Research : Biohydrometallurgy*. 2009, vol 71-73, s. 47-50. ISSN: 1662-8985
GLAZER, Alexander N.; NIKAIIDO, Hiroshi. *Microbial biotechnology: fundamentals of applied microbiology*. New York : Cambridge University Press, 2007. xvii, 554 s. ISBN 978-0-521-84210-5
JOHNSON, Barrie D.; HALLBERG, Kevin B. The mikrobiology of acidic mine waters. *Research in Microbiology*. 2003, vol. 154, s. 466 – 473. ISSN 0923-2508
SLÁDEČEK, Vladimír; SLÁDEČKOVÁ, Alena. *Atlas vodních organismů se zřetelem na vodárenství, povrchové vody a čistírny odpadních vod. Destruenti a producenti, 1. díl*. Praha : Česká vědeckotechnická vodohospodářská společnost, 1996. 350 s. ISBN 80-02-01080-9

Formální náležitosti a rozsah diplomové práce stanoví pokyny pro vypracování zveřejněné na webových stránkách fakulty.

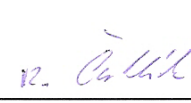
Vedoucí diplomové práce: **Mgr. Hana Vojtková, Ph.D.**

Datum zadání: 31.10.2011

Datum odevzdání: 30.04.2012


prof. Ing. Vojtech Dirner, CSc.
vedoucí institutu




prof. Ing. Vladimír Slivka, CSc., dr.h.c.
děkan fakulty

Prohlášení

- Celou diplomovou práci včetně příloh, jsem vypracoval(a) samostatně a uvedla jsem všechny použité podklady a literaturu.
- Byla jsem seznámena(a) s tím, že na moji diplomovou práci se plně vztahuje zákon č.121/2000 Sb. – autorský zákon, zejména § 35 – využití díla v rámci občanských a náboženských obřadů, v rámci školních představení a využití díla školního a § 60 – školní dílo.
- Beru na vědomí, že Vysoká škola báňská – Technická univerzita Ostrava (dále jen VŠB – TUO) má právo nevýdělečně, ke své vnitřní potřebě, diplomovou práci užít (§ 35 odst. 3).
- Souhlasím s tím, že jeden výtisk diplomové práce bude uložen v Ústřední knihovně VŠB – TUO k prezenčnímu nahlédnutí a jeden výtisk bude uložen u vedoucího diplomové práce. Souhlasím s tím, že údaje o diplomové práci, obsažené v Záznamu o závěrečné práci, umístěné v příloze mé diplomové práce, budou zveřejněny v informačním systému VŠB – TUO.
- Bylo sjednáno, že s VŠB – TUO, v případě zájmu z její strany, uzavřu licenční smlouvu s oprávněním užít dílo v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona.
- Bylo sjednáno, že užít své dílo – diplomovou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití mohu jen se souhlasem VŠB – TUO, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly VŠB – TUO na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše).

V Ostravě 19. 4. 2012

Bc. Jana Motáková

Poděkování

Tímto bych chtěla poděkovat vedoucí své diplomové práce Mgr. Haně Vojtkové, Ph.D. za pomoc při výběru literatury, ochotu, trpělivost a užitečné rady při zpracování mé práce. Dále bych chtěla poděkovat Ing. Haně Kašákové a Ing. Radimovi Jablonkovi za pomoc v mikrobiologické laboratoři. A také bych chtěl poděkovat rodičům za podporu při studiu.

Anotace

Tato diplomová práce se zabývá tematikou železitých bakterií. V jednotlivých kapitolách jsou popsány vlastnosti, vliv vnějších faktorů na bakterie, metabolismus a zejména taxonomické zařazení železitých bakterií. Je zde uveden i význam železitých bakterií působících v kyselých důlních vodách nebo ve sladkých vodách, studnách a půdních vrtech. Dále je práce tvořena experimentální částí, která se zabývá kultivací železitých bakterií z různých druhů vod, stanovením vzorků dvěma metodami barvení a následnou mikroskopickou analýzou.

Klíčová slova: železité bakterie, železo, mikroorganismy, kultivace, kultivační média

Summary

This thesis deals with the theme of iron bacteria. Each chapter describes the properties, the influence of external factors on bacteria, metabolism and in particular taxonomic classification of iron bacteria. It is shown here as the importance of iron bacteria involved in acid mine waters or in freshwater wells and soil boreholes. Further experimental work is made up of parts, which deals with the cultivation of iron bacteria of various types of water samples providing two methods of staining and subsequent microscopic analysis.

Keywords: iron bacteria, iron, microorganisms, cultivation, culture media

Obsah

1. Úvod a cíl práce	1
2. Morfologie a fyziologie železitých bakterií	2
2.1. Tvar a velikost buňky	2
2.2. Funkční části buňky	2
2.2.1. Nukleoid.....	2
2.2.2. Plazmidy	3
2.2.3. Ribozómy.....	3
2.2.4. Základní cytoplazma.....	3
2.3. Povrchové struktury bakteriální buňky	4
2.3.1. Pouzdro	4
2.3.2. Fimbrie.....	4
2.3.3. Bičíky.....	5
2.3.4. Cytoplazmatická membrána	5
2.3.5. Buněčná stěna	5
2.4. Chemické složení bakteriální buňky	6
2.5. Účinek vnějších faktorů na železité bakterie	7
2.6. Výživa železitých bakterií	9
2.7. Metabolismus železitých bakterií	10
3. Význam železitých bakterií	11
4. Přehled nejdůležitějších taxonů železitých bakterií	14
4.1. Pochvaté bakterie	14
4.2. Bakterie množící se pučením nebo vytvářející extracelulární výběžky	17
4.3. Gramnegativní chemolitotrofní bakterie.....	19
5. Experimentální část.....	22
5.1. Hydrogeologická charakteristika	22
5.2. Kultivace železitých bakterií	24
5.3. Výsledky experimentu	25
5.4. Shrnutí výsledků a jejich diskuse.....	35
6. Závěr	37
Použitá literatura	38
Seznam tabulek a obrázků	40

1. Úvod a cíl práce

Fyziologické skupiny bakterií, které jsou schopny oxidovat dvojmocné železo na trojmocné železo a současně využívají energii vzniklou při této oxidaci, se nazývají železité bakterie [8], [12]. Tento název však může být zavádějící, neboť tyto bakterie neoxidují pouze jeden prvek, železo, ale většinou zde dochází současně i k přeměně jiných prvků jako je například mangan [5].

Železité bakterie se vyskytují zejména ve vodním prostředí, ať už se jedná o stojaté, tekoucí nebo odpadní vody, které je bohaté na organicky vázané železo, jež se do vody dostalo vymýváním z půdy nebo horninového prostředí a způsobuje její specifické oranžovo-hnědé zabarvení [8], [12]. Jedná se především o obligátně aerobní bakterie, které jsou buď chemolitotrofní, jako například rody *Siderocapsa*, *Naumaniella* a nebo chemoorganotrofní pochvaté bakterie (rody *Sphareotillus*, *Leptothrix*) a pučící bakterie (rod *Gallionella*) [1], [8].

Cílem práce bylo ucelení charakteristiky a experimentální stanovení železitých bakterií pomocí tekutých a moderních selektivních diagnostických médií. Železité bakterie byly nasnímány a u některých případů se jedná o originální snímky, neboť z dostupné literatury nejsou známy fotografie na pevných kultivačních médiích.

2. Morfologie a fyziologie železitých bakterií

2.1. Tvar a velikost buňky

Tvar bakteriální buňky není příliš rozmanitý. V podstatě existují pouze dva základní typy tvarů, kulatý tvar (kok) a podlouhlý tvar označovaný též jako tyčinkovitý (bacil). Oba základní tvary se v závislosti na fyziologické skupině bakterií a způsobu seskupení mohou dále dělit na diplokoky, streptokoky, vibria a podobně [1], [18].

U železitých bakterií je tvar buňky závislý na systémovém rozdělení. Chemolitotrofní bakterie jsou převážně kokálního nebo tyčinkovitého tvaru (rody *Siderococcus*, *Siderocapsa*, *Naumaniella*), chemoorganotrofní bakterie, které tvoří pochvy, mají tyčinkovitý tvar (rod *Leptothrix*) někdy spojený do řetězců (rod *Sphaerotillus*) nebo jsou vláknitého vzhledu (rod *Crenothrix*, *Clonothrix*). Chemoorganotrofní pučící bakterie, jako je rod *Gallionella*, má šroubovitě zkroucené stopky a na nich buňky ledvinovitého tvaru [1], [20], [21].

Velikost bakteriální buňky se pohybuje v rozmezí 0,2 – 1,5 μm na rozdíl od eukaryotické buňky, jejíž velikost je v řádech několik desítek μm . Přesto i u železitých bakterií lze nalézt výjimku, a to u bakterií rodu *Crenothrix*, jehož buňku vláknitého tvaru tvoří pochvatá vlákna dlouhá až několik mm [1], [8], [20].

2.2. Funkční části buňky

2.2.1. Nukleoid

Nukleoid bakterie tvoří jediná dvoušroubovice molekuly DNA, která vyplňuje přibližně 10 procent objemu buňky. Je asi tisíckrát delší než samotná bakteriální buňka. U bakterií není nukleoid oddělen od okolní cytoplazmy žádnou jadernou membránou, nicméně je k vnitřní straně cytoplazmatické membrány přichycen dvěma body pomocí mesozomů [1], [8], [15], [22].

Bakteriální chromozom, jak je někdy nukleoid označován, je nositelem genetické informace buňky, ve které jsou konkrétní informace o stavbě nebo funkci buňky rozděleny do jednotlivých genů. Předpokládá se, že buňka bakterií obsahuje 3000 – 3500 genů [8], [22].

2.2.2. Plazmidy

Jsou malé cyklické molekuly DNA, které se vyskytují volně v cytoplazmě a jsou několikanásobně menší než nukleoid bakterie. Plazmidy nesou doplňkovou informaci buňky, jako například schopnost rezistence k antibiotikům nebo těžkým kovům. Bakteriální buňka je může ztratit nebo získat, například při konjugaci, ale nedokáže je sama regenerovat [1], [8], [16], [22].

Relativní molekulová hmotnost plazmidů se pohybuje okolo $10^6 - 10^8$ a obsahuje řádově desítky až stovky genů. Ve srovnání s chromozomem tvoří DNA plazmidu pouze 0,2 % [8], [16], [18].

2.2.3. Ribozómy

Ribozómy jsou orgány elipsovitého tvaru, ve kterých se uskutečňuje syntéza bílkovin. Obecně se skládají z ribozomální RNA a bílkovin, konkrétně u bakterií je ribozóm složen ze dvou podjednotek sedimentačního koeficientu 30S (1 molekula rRNA – 16S a 21 molekul bílkovin) a 50S (2 molekuly rRNA – 5S a 23S a 34 molekul bílkovin). Dohromady tyto podjednotky tvoří ribozóm se sedimentačním koeficientem 70S. Ribozómy představují asi 80 % hmotnosti celkové buněčné RNA. V buňce se objevují buď volně v cytoplazmě, nebo v oblasti jádra, případně se vyskytují na obvodu cytoplazmatické membrány, kde je jejich úkolem syntetizovat bílkoviny. Funkcí ribozómu je tedy vzájemné a hlavně správné uspořádání tRNA a mRNA tak, aby mohlo dojít k přesnému čtení genetického kódu neboli genová exprese [8], [9], [15], [18].

2.2.4. Základní cytoplazma

Základní cytoplazma vyplňuje vnitřní prostor buňky. Jedná se o koloidní roztok, který obsahuje zejména bílkoviny s převážně enzymatickou funkcí (například katalyzují biosyntetické a rozkladné procesy) [8], [15].

V základní cytoplazmě je možné nalézt různé druhy strukturních útvarů jako například bakteriální chromozom, ribozomy a granula zásobních látek. Zásobní látkou, a tedy i zdrojem uhlíku a energie, je u bakterií převážně glykogen a kyselina poly- β -hydroxymáselná [1], [9].

Kromě výše uvedených buněčných útvarů se v cytoplazmě nachází také různá barviva zbarvující některé bakterie a jejich kolonie, jako jsou například karotenoidy a melanoidy, dále obsahuje i zplodiny metabolických reakcí, které jsou určeny k vyloučení do extracelulárního prostoru buňky [18], [22].

Vzhledem k tomu, že strukturní útvary obsažené v cytoplazmě jsou převážně ve volném stavu, může u železitých bakterií tlak buňky dosahovat až 0,5 MPa, [18].

2.3. Povrchové struktury bakteriální buňky

2.3.1. Pouzdro

U některých bakterií se na povrchu vyskytuje také pouzdro (kapsula - například ve formě pochvy nebo slizovité vrstvy), které je umístěno nad buněčnou stěnou. Tato pouzdra mohou být v závislosti na kultivačních podmínkách různé tloušťky, různého typu a rozhraní. Díky tomuto rozlišení se pouzdra dělí na mikrokapsule, makrokapsule a pochvy [8], [15], [18].

Železité bakterie patří většinou k pochvatým bakteriím (například rody *Sphareotilus*, *Leptothrix*). Pochva má nejčastěji podlouhlý tvar a buňky jsou v ní ukryty ve formě řetízků a je převážně složena z heteropolysacharidů (galaktóza, fruktóza, nebo glukóza). Pochva u železitých bakterií obsahuje také hydroxidy železa nebo manganu [15].

K základním funkcím bakteriálního pouzdra patří příjem potravy. Je prvním buněčným materiálem, ve kterém dochází k fyzikálnímu kontaktu s ionty z okolního prostředí a chrání buňky před nepříznivými vlivy, např. před vyschnutím nebo před napadením fagocytem [1], [8].

2.3.2. Fimbrie

Krátká, rovná, křehká vlákna na povrchu některých gramnegativních bakterií se nazývají fimbrie. U gramnegativních železitých bakterií slouží především k lepší adhezi na povrch. Existují i speciální fimbrie (sex-fimbrie) sloužící k přenosu genetické informace při konjugaci dvou bakterií [1], [8], [15].

2.3.3. Bičíky

Bičíky jsou vláknité specifické orgány, které umožňují samostatný prostorový pohyb bakterií. Jejich umístění je rozmanité. Mohou se nacházet na jednom nebo obou koncích případně po celém povrchu bakterie. Bičíky jsou tvořeny z bílkoviny flagelinu, který je specifický pro jednotlivé bakteriální druhy. Pohyb bakterií se uskutečňuje krouživým pohybem bičíku, který připomíná pohyb lodního šroubu [1], [8], [15].

Z železitých bakterií byly bičíky pozorovány u rodů *Sphareotilus*, *Leptothrix*, *Gallionella* a *Ochrobium* [20].

2.3.4. Cytoplazmatická membrána

Je známo, že cytoplazmatická membrána je tvořena vrstvou fosfolipidů a bílkovin, ale její přesná struktura není dosud dokonale popsána. Současná teorie říká, že dvojvrstvu tvoří fosfolipidy a bílkoviny jsou asymetricky umístěny mezi vrstvami. Nicméně poměr bílkovin a fosfolipidů je v cytoplazmatické membráně přibližně 70 % ku 30 % [15], [18].

Funkcí cytoplazmatické membrány je převážně izolace a osmotická regulace prostředí buňky, tedy řídí přenos látek mezi buňkou a okolím, což je umožněno semipermeabilními vlastnostmi membrány. Další významnou funkcí cytoplazmatické membrány je transformace energie [9], [15].

2.3.5. Buněčná stěna

Buněčná stěna je pevná, elastická a propustná pro soli a jiné vysokomolekulární i nízkomolekulární sloučeniny. Tyto vlastnosti jsou dány obsahem peptidoglykanu a dalších látek, jejichž obsah se liší v závislosti na grampozitivních nebo gramnegativních bakteriích [1], [15], [22].

Grampozitivní bakterie mají buněčnou stěnu tvořenou peptidoglykanem (mureinem) a řetězci teichoové kyseliny. Toto složení vytvoří homogenní a poměrně silnou stěnu tloušťky až 20 nm. Grampozitivní stěna může dále obsahovat polysacharidy, bílkoviny a teikuronové kyseliny [8], [15], [18].

Gramnegativní bakterie mají buněčnou stěnu tenčí a slabší, asi jen 10 nm, ale její stavba je složitější, neboť na jedinou peptidoglykanovou vrstvu navazuje dvojvrstva fosfolipidů, na kterou jsou dále vázány bílkoviny [8], [15].

Buněčná stěna plní funkci skeletu, který je mechanicky pevný a především chrání buňku před vnějšími nepříznivými vlivy [9].

2.4. Chemické složení bakteriální buňky

Prokaryotní buňku bakterií tvoří zejména čtyři biogenní prvky: uhlík, dusík, kyslík a vodík. Tyto prvky tvoří 99 % složení buňky, a přesto u každého druhu je poměr zastoupení jiný, neboť existuje mnoho variant organických sloučenin, které jsou tvořeny různým provázáním základních čtyř biogenních prvků [9], [18].

Voda tvoří u bakterií kolem 80 % celkové hmotnosti. Má vliv na prostorové uspořádání buněčných organel a v buňce se vyskytuje ve dvou formách: voda vázaná, která je součástí buněčných struktur a voda volná, uplatňována jako rozpouštědlo a vhodné prostředí pro životní pochody buňky [1], [8], [15].

Asi 50 % hmotnosti sušiny je obsaženo v bílkovinách. V bakteriální buňce se vyskytují nejčastěji bílkoviny globulárního (kulovitého) tvaru, který je nejčastější, ale také fibrilární (lineární) bílkoviny, přičemž celkový počet je odhadován na 2 – 3 tisíce v jedné buňce [1], [9].

Bílkoviny tvoří aminokyseliny spojené v peptidových řetězcích a toto uspořádání udává čtyři následující struktury. Primární řadové umístění aminokyselin, sekundární prostorové uspořádání, terciální trojrozměrná struktura peptidového řetězce a kvarterní struktura, které tvoří spojení podjednotek bílkovin do vyšších celků [15], [18].

V bakteriální buňce plní bílkoviny dvě základní funkce. První je funkce stavební, která udává její specifický tvar. Druhou, neméně důležitou funkcí je enzymatická aktivita určující rychlost a průběh všech reakcí v buňce [8].

Lipidy jsou ve vodě nerozpustné makromolekuly, které dělí se na lipidy jednoduché, tedy bez obsahu mastných kyselin a lipidy složené, skládající se z mastných kyselin a alkoholů. U většiny buněk se nachází ve formě rezervního materiálu a je možné je extrahovat nepolárními rozpouštědly. V bakteriích se vyskytují převážně lipoproteiny ve

formě fosfoglyceridů (glycerol-3-fosfát a 2 molekuly mastných kyselin) a jsou stavebními kameny biologických membrán. Souhrnně lze říci, že se lipidy podílí na regulaci povrchového napětí a permeability buněk [1], [8], [18].

Polysacharidy vznikají spojením monosacharidů pomocí glykosidické vazby a jedná se o typické repetitivní makromolekuly. Jejich množství v buňce je ovlivněno jejím stářím a dalšími faktory vnějšího prostředí. Mezi hlavní funkce polysacharidů v bakteriální buňce patří funkce stavební, odpovídající za stavbu buněčné membrány a určující její tvar a pevnost. Druhá neméně důležitá role sacharidů je jako zdroje zásobních látek a to zejména glykogenu a škrobu. Pokud jsou polysacharidy obsaženy i v bakteriálním pouzdře, plní také funkci ochrannou [1], [9], [18].

2.5. Účinek vnějších faktorů na železité bakterie

Nejen život bakterií, ale i všech ostatních mikroorganismů je závislý na vnějších podmínkách životního prostředí. Faktory vnějšího prostředí jako je teplota, zdroje živin, pH prostředí, záření a další, působí na bakterie příznivě – například napomáhají jejich růstu, nebo nepříznivě, což má vliv na osídlení daného biotopu a také poškozují životně důležité části bakterií (poškození buněčné stěny, zastavení enzymatické aktivity, inhibice množení) [1], [12], [17].

Teplota je jeden z faktorů, který bakterie ovlivňuje nejvíce. Nejlépe se vliv teploty projevuje v růstu, pokud je teplota příliš vysoká či nízká, může být růst zastaven. Z hlediska teploty lze rozlišit tři druhy teplot; minimální (teplota, při které dokáže bakterie začít růst), maximální (buňka ještě roste, ale jinak je to už nejvyšší možná teplota růstu) a optimální (teplota, při které dosahuje buňka nejvyšší rychlosti růstu) [22].

Železité bakterie nemají rozmanité fyziologické skupiny v závislosti na teplotě. Většina z nich patří k mezofilním bakteriím, s teplotami růstu pohybujícími se okolo 20 – 40°C. Ale nachází se zde i zástupci železitých bakterií, jejichž optimální teplota růstu začíná již na 10°C (např. rody *Leptothrix* a *Sphaerotilus* mají optimální teplotu růstu mezi 10 – 30°C, nebo rod *Siderococcus*, který žije pouze ve vodách s teplotou okolo 10°C) [15], [17].

Při vysoké teplotě může tedy dojít až k vysušení buňky a k jejímu zániku, při nízkých teplotách se začínají v buňce tvořit krystalky vody, které později mohou narušit

buněčnou strukturu [1]. V podstatě je teplota faktorem ovlivňujícím bakterie od regulace růstu, přes změnu morfologie a metabolických pochodů až k možnosti působit na bakterie jako konzervační činitel [12].

Životní pochody bakterií ovlivňuje také hydrostatický tlak. Bakterie zpravidla rostou při atmosférickém tlaku a proto, dosáhne-li k hodnotám okolo 10 – 40 MPa růst bakterií se zastavuje [22]. Negativním působením vyššího hydrostatického tlaku dochází k zastavení pohybu, růstu, změnám metabolismu a k oslabení virulence [15].

Dalším významným faktorem vnějšího prostředí je záření. Mimo fototrofní bakterie, které ke svému životu potřebují sluneční světlo, tak většina bakterií žije a nejlépe roste ve tmě. Proto je záření ve větší či menší míře pro bakterie škodlivé [1]. Železité bakterie jsou před slunečním zářením chráněny nejen vytvořenou pochvou potaženou slizovitou vrstvou, jež účinky záření zeslabí, ale také většina z nich patří k organismům žijícím ve vodě, která krátkovlnná záření pohlcuje [12], [17]. Co se týče ostatních druhů záření (UV, X a γ paprsky) jsou k nim železité (gramnegativní) bakterie mnohem citlivější než grampozitivní [1], [15], [22].

Koncentrace vodíkových iontů neboli pH prostředí je dalším faktorem, který významně ovlivňuje růst a množení bakterií. Převážná většina bakterií má stanovené mezní hodnoty pH mezi 4 – 10, avšak optimální hodnota růstu je kolem pH 7. Některé acidofilní bakterie, například *Acidithiobacillus ferrooxidans*, mohou růst i při pH, které je nižší než 1 [15], [17].

Oxido-redukční potenciál úzce souvisí s pH a obsahem kyslíku a je dán hodnotou E_h , která se značně liší u aerobních a anaerobních bakterií. Železité bakterie jsou převážně aerobní a hodnota jejich oxido-redukčního potenciálu je 0,2 – 0,4 V [12], [15].

Z hlediska závislosti pH a hodnoty oxido-redukčního potenciálu (E_h) lze biotopy osídlené železitými bakteriemi dělit do 3 skupin. Prvním je biotop s vysokým E_h a nízkým pH – acidofilní chemolitotrofové oxidující sirníky v důlních vodách, druhý biotop má střední hodnoty E_h a neutrální pH a je reprezentován mikroaerofilními chemolitotrofními a organotrofními vodními bakteriemi a poslední skupina chemoorganotrofních bakterií, rozkládajících organické železité látky, se vyskytuje v prostředí s vysokým E_h a neutrálním pH. Železité bakterie, oxidující mangan, vyžadují prostředí s vysokým E_h a pH hodnoty 8.

Na rozdíl od klasických železitých bakterií, magnetotaktické železité bakterie potřebují k růstu nízké E_h a neutrální pH [20].

2.6. Výživa železitých bakterií

Železité bakterie jako každé jiné mikroorganismy potřebují pro svůj život základní živiny jako je uhlík, dusík, fosfor, kyslík a dále energii k metabolickým procesům.

Uhlík je potřebný k vytvoření uhlikatých skeletů, k biosyntéze lipidů, sacharidů a ostatních organických látek. Pro železité bakterie existují dva možné zdroje uhlíku; buď ve formě oxidu uhličitého (CO_2) – autotrofní železité bakterie rodu *Gallionella* a čeledi *Siderocapsaceae*, nebo ve formě organických látek – heterotrofní bakterie rodů *Leptothrix*, *Crenothrix*, *Clonothrix* a *Sphaerotilus* [1], [12], [17]

Aby bakterie mohly tvořit nukleotidy, aminokyseliny a další heterocyklické látky, je potřeba dusíku, který železité bakterie získávají z amonných solí, dusičnanů, dusitanů a také bílkoviny u heterotrofních bakterií a to většinou za přítomnosti vitamínu B_{12} nebo metioninu [1], [15].

Železité bakterie potřebují k životu také minerály (S_2 , P, O_2 , H_2) a stopové prvky (K, Mg, Ca, Cl, Cu, B), jež se podílí na metabolických procesech, při biosyntéze bílkovin nebo slouží jako aktivátory enzymatických reakcí [15], [17].

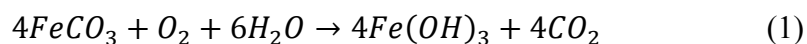
Získanou energii z různých zdrojů bakterie nejdříve přemění na energii makroergických vazeb, která je následovně využita v biosyntetických pochodech. Na základě získávání energie se železité bakterie dělí do 3 základních skupin. První skupinou jsou obligátně autotrofní bakterie (rod *Gallionella*) oxidující uhličitán železitý ($FeCO_3$) na hydroxid železitý ($Fe(OH)_3$) a vytvořenou energii využívají k redukci oxidu uhličitého (CO_2). Druhou skupinu tvoří fakultativně autotrofní bakterie (rod *Leptothrix*), které hydroxid železitý tvoří z organických a minerálních solí železa, a třetí skupinou jsou heterotrofní a obligátně aerobní bakterie oxidující železo na hydroxid železitý ($Fe(OH)_3$) z volných radikálů organických solí železa a zdrojem energie jim jsou organické sloučeniny [12].

2.7. Metabolismus železitých bakterií

Bakteriální buňka je otevřený systém, schopný si s okolím vyměnit hmotu, energii a informace. Tato výměna se nazývá metabolismus. Metabolické reakce, neboli soubor všech fyzikálních a chemických reakcí, probíhají za předem určených pravidel, a každý probíhající děj je spjatý s druhým probíhajícím dějem. Obecně řečeno, výsledek prvního metabolického procesu je spouštěčem pro nadcházející děj. Látkové přeměny probíhající v procesu metabolismu, jsou základními procesy pro vytváření základních stavebních materiálů, energie a ostatních životních pochodů buňky [8], [15].

Železité bakterie ať už se jedná o chemolitotrofní (rod *Gallionella* a čeleď *Siderocapsaceae*) nebo chemoorganotrofní (rody *Leptothrix*, *Crenothrix*, *Clonothrix* a *Sphaerotilus*), bakterie získávají energii k metabolickým procesům aerobní respirací, ale liší se ve využití potřebného substrátu. Chemolitotrofní bakterie využívají anorganický substrát a chemoorganotrofní substrát organický [1], [15], [17].

Při metabolických procesech bakterie oxidující sloučeniny železa a manganu oxidují dvojmocné železo na trojmocné železo a to zejména na hydroxid železitý podle reakce: [15]



Avšak je známo, že železo je citlivé na jakékoliv změny oxido-redukčního potenciálu a díky tomu umí samo přecházet z oxidované formy na formu redukovanou a tudíž podíl bakterií na tomto procesu není tak velký, podle dostupné literatury je to podíl spíše sekundární [12].

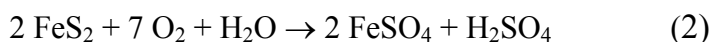
3. Význam železitých bakterií

Výskyt železitých bakterií v kyselých důlních vodách

Kyselé důlní vody jsou příčinou znečištění povrchových a podzemních vod i okolních půd v důsledku vytékající kyselé důlní vody na povrch z již nečinných dolů a lomů. V tomto prostředí dochází k uvolňování různých kontaminantů, především železa, manganu, sulfidů z okolních hornin. Koncentrace těchto kontaminantů je rizikem pro okolní životní prostředí [7].

Například pyrit (FeS_2), který znečišťuje povrchové toky zejména v oblastech, které jsou v blízkosti těžby uhlí bohatého na sulfidy a v místech, kde se těží přímo sulfidické minerály, lze relativně snadno odstranit pomocí biologického loužení [10].

Tyto sulfidy za přítomnosti kyslíku a za působení vody vytváří škodlivé sírany [14]:



V důlních vodách je koncentrace železitých iontů Fe^{2+} okolo 7,3 mg/l, ale ve vodách bez obsahu kyslíku je tato koncentrace okolo 100 mg/l. Tyto hodnoty jsou způsobeny stykem pyritu a vody z čehož vyplývá, že čím déle bude pyrit ponořen ve vodě, tím více bude ve vodě vyluhovaných železitých iontů. To vše ale také závisí na povrchových vlastnostech a krystalografickém složení pyritu [14].

Existují i další sulfidické minerály schopné uvolnit ionty do roztoku a to například galenit, sfalerit, kovelín [6].

Důležitým faktorem vzniku kyselých důlních vod je aktivita mikroorganismů, které oxidují sirné látky na kyselinu sírovou nebo oxidující dvojmocné železo Fe^{2+} , čímž dochází k urychlení rozpuštění sulfidických minerálů [6].

Jsou to především bakterie rodu *Acidithiobacillus*, *Leptospirillum* a *Acidophilium*. Nejznámějším a nejprozkoumanějším druhem z nich je *Acidithiobacillus ferrooxidans*, jenž je známa jako první bakterie oxidující pyrit. V současné době ji však nahrazuje železitá bakterie *Leptospirillum ferrooxidans*, která je v prostředí aktivnější a přizpůsobivější. [6]

Při procesech oxidace může dojít v důsledku zvýšení pH vody k uvolňování těžkých kovů, které jsou toxické pro okolní prostředí. Ačkoliv samotné železité ionty podporují vznik kyselých důlních vod, mají i jednu pozitivní vlastnost, neboť dokáží na sebe navázat vzniklé těžké kovy, které by se jinak koncentrovaly ve vodách, a mohly by být vážným problémem kontaminace okolního prostředí [2], [3].

Výskyt železitých bakterií ve sladkých vodách

Železité bakterie způsobují problémy v zásobování vodou již od počátků civilizace. Z minulosti existuje mnoho záznamů o červeně zbarvených vodách, o vodách pokrytých slizovitou vrstvou a velmi zanesených studnách s nekvalitní vodou [5].



Obrázek 1: Koroze vodovodního potrubí [24]

Nejvíce sledované bakterie jako *Gallionella*, *Leptothrix* nebo *Crenothrix* byly nalézány ve sladkovodním prostředí podzemních vod, v nově budovaných studnách nebo na kořenech vodních makrofytů [7].

Ve studnách, kde je největším problémem zanášení vodovodního potrubí, bakterie snižují nejen průtok, ale samozřejmě i kvalitu vody. Bakterie zodpovědné za ucpávání potrubí, se do vod dostávají v průběhu vrtacích prací, kdy se na zařízení mohou přenést z jiných kontaminovaných lokalit, nebo se do vody dostanou z okolního půdního prostředí právě v důsledku mechanického narušení [5].

K doporučeným metodám zabránění množení železitých bakterií a následnému zanesení potrubí patří například lepší kontrola a desinfekce zařízení ještě před tím, než

bude použito v nové lokalitě. Dalším způsobem je okamžité chemické ošetření nově vzniklého vrtu a jeho následná pravidelná kontrola. Chemické metody, kdy se používaly převážně kyseliny chlorovodíková nebo sulfaminová, nejsou tak účinné. Musí se provádět opakovaně, působí jen krátkou dobu a převážná většina železitých bakterií je vůči těmto procesům imunní, neboť jsou obaleny pochvou, slizovitou vrstvou, která brání proniknutí účinných látek k bakterii. Proto se populace ve vodě snižuje jen velmi pomalu. Jako lepší a účinnější metody se ukázaly fyzikální procesy, kdy se do nově vzniklých vrtů zaváděly čerpadla, přes něž se hnala do vody horká vodní pára, která se nechala působit kolem 40 minut a poté se odčerpala převážná část svrchní vody, která byla tmavě - hnědě zabarvena. Teplota páry byla blízká teplotám pasterizace (kolem 70°C), jenž má dobré bakteriocidní účinky[5].

V zájmu ochrany zdrojů pitné vody, je nutné dodržovat nejvíce možnou hygienickou bezpečnost a využívat nejlepší dostupné techniky a dosud zjištěné vědomosti při hloubení nových zdrojů.

4. Přehled nejdůležitějších taxonů železitých bakterií

Obecně lze bakterie rozdělit do 3 skupin podle barvitelnosti buněčné stěny podle Gramma, bakterie *Gracilicutes* (gramnegativní), *Firmicutes* (grampozitivní) a *Tenericutes* (neboli mykoplazmata, které nemají buněčnou stěnu) [1].

Železité bakterie patří do oddělení *Gracilicutes*. Jejich buněčná stěna se barví do červena. Mají velmi tenkou buněčnou stěnu a netvoří endospory. Bakterie tohoto oddělení jsou z hlediska výživy chemolitotrofní, chemoorganotrofní, aerobní, fakultativně anaerobní a fototrofní [1], [9].

Podle Bergey's manual of Determinative Bacteriology [15], lze železité bakterie podle morfologicko-fyziologických znaků řadit do 3 specifických skupin na bakterie, množící se pučením nebo vytvářející extracelulární výběžky, pochvaté a gramnegativní chemolitotrofní bakterie.

4.1. Pochvaté bakterie

Jde o bakterie tvořící řetízky nebo dlouhá a mnohobuněčná vlákna, která jsou obklopena a uzavřena do pochvy. Pochva se skládá z bílkovin, lipidů a polysacharidů. Na povrchu se obvykle vyskytuje slizovitá polysacharidová vrstva, většinou impregnována hydroxidy železa nebo manganu. Buňky v pochvách se mohou, ale nemusí pohybovat. Hlavním významem pochvy je její schopnost přichytit se k substrátu (kameny, větve). Pochvaté železité bakterie osídlují jezera, říčky, ale také se mohou nacházet ve vodách z čistíren odpadních vod. K této skupině patří rody *Leptothrix*, *Sphaerotilus*, *Clonothrix*, *Crenothrix* a *Toxothrix* [1], [15], [22].

Rody *Leptothrix* a *Sphaerotilus* jsou rody řazeny mezi bakterie s dosud nepřesně jasným taxonomickým zařazením. Bakterie tohoto rodu jsou aerobní a chemoorganotrofní [20].

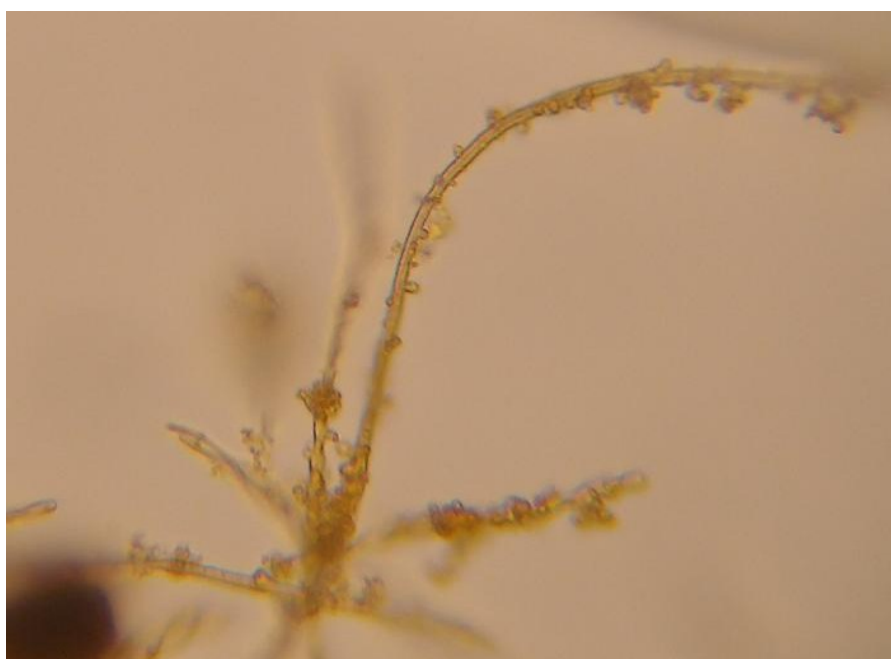
Rod *Leptothrix* je gramnegativní a striktně aerobní rod bakterie s buňkami ve tvaru rovných tyček o velikosti 0,6 – 1,5 μm , které jsou uspořádány do řetízků obalených pochvou. Volně žijící buňky jsou schopny pohybu pomocí jednoho bičíku. Rod *Leptothrix* tvoří chemoorganotrofní bakterie využívající jako zdroj energie a uhlíku organické

sloučeniny, cukry a glycerol. Vyskytují se především ve sladkých, pomalu tekoucích vodách [15], [20].

Typickým druhem je *Leptothrix ochracea* (celosvětově rozšířený druh) a další zástupci jako např. *Leptothrix lopholea*, *Leptothrix major* a nebo *Leptothrix sideropous*. [20], [21]



Obrázek 2: Zástupci rodu *Leptothrix* - a) *Leptothrix ochracea*, b) *Leptothrix sideropous*, c) *Leptothrix major*, d) *Leptothrix lopholea* [21]



Obrázek 3: *Leptothrix ochracea* (soukromý archiv – Mgr. Hana Vojtková Ph.D.)

Jako u výše zmiňovaného rodu se u rodu *Sphaerotilus* také jedná o gramnegativní, obligátně aerobní, chemoorganotrofní bakterie, pro které jsou zdrojem uhlíku a energie alkoholy, cukry a jen některé organické kyseliny. Pohybují se pomocí svazku bičíků a pochva obklopující řetízky tyček je tenká a neobsahuje sloučeniny železa ani manganu. Zástupci se vyskytují v pomalu tekoucích vodách, které mohou být kontaminovány

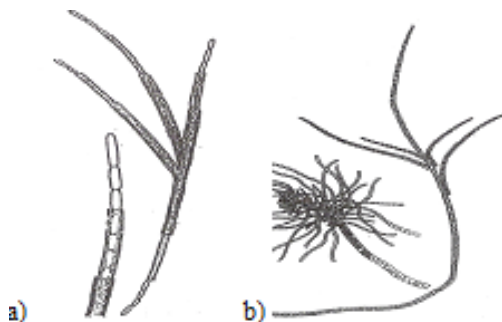
odpadními vodami z potravinářského průmyslu a zemědělství. Nejznámějším zástupcem je *Sphaerotilus natans* [15], [17], [20].



Obrázek 4: *Sphaerotilus natans* [19]

Rod *Crenothrix* patří do čeledi *Crenotrichaceae*, jež byla popsána již v roce 1988. Jde o bakterie tvořící nevětvená vlákna tvaru válce, která mohou dosahovat až jednoho centimetru. Okolo vlákna mají tenkou pochvu obsahující hydroxid železitý, ale velmi často také hydroxid manganatý. Jsou to gramnegativní, striktně aerobní bakterie žijící ve vodách málo bohatých na organické látky a ionty dvojmocného železa. Typickými zástupci tohoto rodu jsou *Crenothrix polyspora* a *Crenothrix fusca* [15], [20].

Crenothrix polyspora je klasickým příkladem bakterie, která může mít vlákna dlouhá několik milimetrů a u základů široká až 9 nm. Vytvořená pochva je převážně bezbarvá. Na konci vlákna se mohou tvořit mikro a makrogonidie, které přichycením na podklad vytváří vlákna nová. *Crenothrix polyspora* je aerobní bakterie, avšak ke svému růstu ji stačí minimum rozpuštěného kyslíku, proto dokáže rychle zanášet vodovodní potrubí a na její odstranění je potřeba jak dezinfekce, tak mechanická síla [21].



Obrázek 5: Zástupci rodu *Crenothrix* - a) *Crenothrix fusca*, b) *Crenothrix polyspora* [21]

Bakterie rodu *Toxothrix* tvoří buňky válcovitého tvaru připomínající písmeno „U“. Vlákna má velmi křehká a rotující. Jedná se o chemoorganotrofní bakterie, kterým k životu

stačí také nízká koncentrace kyslíku. Hojně se vyskytují ve studených potocích a tůních. Klasickým druhovým zastoupení je *Toxothrix trichogenes* [20].



Obrázek 6: *Toxothrix trichogenes* [21]

Bakterie rodu *Clonothrix* jsou gramnegativní, chemoorganotrofní s přisedlými vlákny dlouhými až 1,5 cm. Rozmnožují se tak, že se buňky uvnitř pochvy oddělí, pochva se rozlomí a vypustí oddělenou buňku, která začne tvořit nová vlákna. Někdy ovšem nedojde k uvolnění buňky do prostředí a ta začne tvořit vlákna uvnitř pochvy, neboli tzv. nepravé větvení [15], [20].

Clonothrix fusca se vyskytuje v potrubích a různých nádržích, kde se uchycuje na přítomné druhy řas. Pochvy této bakterie jsou rozdílně tlusté, záleží na tom, zda jsou inkrustovány manganem (tlustší) nebo železem (tenčí) [21].



Obrázek 7: *Clonothrix fusca* [21]

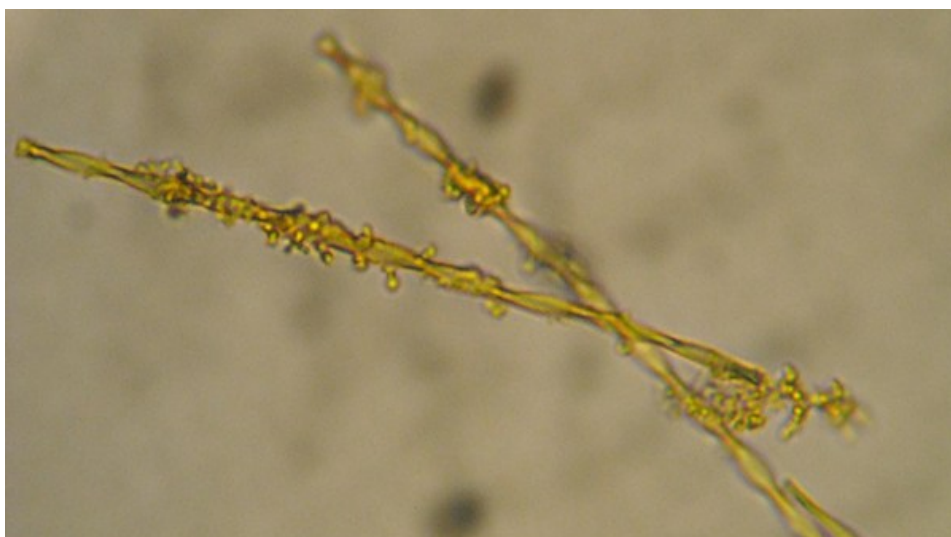
4.2. Bakterie množící se pučením nebo vytvářející extracelulární výběžky

Do této skupiny patří bakterie se složitými životními cykly. Řadí se zde především půdní bakterie, jež se vymýváním dostávají do vody. Extracelulární výběžky mohou být buď ve formě prostéky (ohraničení buněčnou membránou) nebo stopky (neohraničené buněčnou membránou). Železité bakterie této skupiny zpravidla tvoří dlouhé stonkovité tvary i buňky fazolovitého tvaru, jež jsou umístěny na konci stébla [12], [15], [22].

Velice důležitou čeledí bakterií z vodního prostředí vytvářejících extracelulární výběžky je čeleď *Gallionellaceae*, ve které jsou bakterie zařazovány převážně podle morfologie, neboť je jednou ze skupin s nejvíce rozmanitou morfologií buňky. Jde o chemolitotrofní bakterie žijících ve shlučích. Nejvíce prozkoumaným a popsáným rodem je rod *Gallionella* [20].

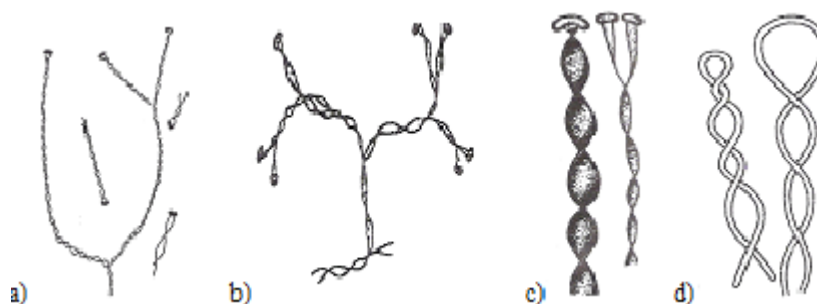
Rod *Gallionella* tvoří gramnegativní bakterie s buňkou ledvinovitého tvaru umístěnou na konci zakřivených nebo rovných stopek, které se mohou vzájemně proplétat. Dlouhé stopky jsou pro rod *Gallionella* charakteristické a slouží jako hlavní diagnostický znak. Jejich délka je 0,5 – 0,7 μm . Kromě stopek mají bakterie rodu *Gallionella* jeden dlouhý bičík, který slouží k pohybu. Jako zdroj uhlíku využívají oxid uhličitý z Calvinova cyklu. Zvláštností tohoto rodu je, že neoxidují sloučeniny s obsahem manganu, ale pouze sloučeniny železa. Převážně osídlují vody a nádrže s velmi vysokým obsahem železa a často ucpávají vodovodní potrubí [15], [20], [21].

Gallionella ferruginea je jedna z nejběžnějších bakterií oxidujících železo, která je charakteristická svými šroubovitě stočenými stonky. V prostředí ji prozradí rezavé zabarvení vody. Vyskytuje se v chladných avšak poměrně čistých podzemních vodách a studnách [21].



Obrázek 8: *Gallionella ferruginea* (soukromý archiv – Mgr. Hana Vojtková Ph.D.)

Dalšími zástupci jsou například *Gallionella minor*, *Gallionella maior*, *Gallionella filamenta*.



Obrázek 9: Zástupci rodu *Gallionella* - a) *Gallionella ferruginea*, b) *Gallionella minor*, c) *Gallionella maior*, d) *Gallionella filamenta* [21]

Následujícím rodem patřícím k bakteriím tvořící extracelulární výběžky je rod *Metallogenium* oxidující dvojmocný mangan (Mn^{2+}) na oxid mangančitý (MnO_2). Patří k magnetotaktickým bakteriím. Tvar buňky je většinou kulovitý o velikosti 0,2 – 1,5 μm a vyskytují se zejména ve shlučích. Mohou se nacházet ve vodě, v půdě a na povrchu skal [17], [20].

4.3. Gramnegativní chemolitotrofní bakterie

Chemolitotrofní bakterie získávají energii oxidací anorganických látek. Patří zde 3 fyziologické skupiny, a to nitrifikační, sirné a železité bakterie. Železité bakterie mají buňky kokální nebo tyčinkovité. Tvoří charakteristické shluky, jež jsou nejčastěji obarveny oxidy železa nebo manganu. Patří sem magnetotaktické železité bakterie [1], [9], [20].

Následující bakterie čeledi *Siderocapsaceae*, patří mezi tzv. magnetotaktické bakterie, což znamená, že i když se pohybují pomocí bičíků, tak díky vlivu magnetického pole mají směr pohybu určený. Na severní polokouli se pohybují vždy směrem k severu a naopak. Tato zvláštnost je dána magnetozomy [20].

Čeď *Siderocapsaceae* tvoří gramnegativní buňky kulovitého až tyčinkovitého tvaru, aerobní a organotrofní. Zvláštností této čeledi je, že tvoří pouzdra inkrustována oxidy železa nebo manganu, ale v žádném případě tyto oxidy neslouží jako zdroj energie. Vyskytují se ve vodním prostředí, kde se často vyskytují na rostlinách a řasách [15], [20].

Podle oxidace železa nebo manganu a tvorby pochvy lze tyto bakterie rozdělit do 3 skupin [12], [15]:

1. Bakterie, které oxidují železo nebo mangan a tvoří pochvu pro několik kulovitých buněk zároveň (*Siderocapsa*).
2. Bakterie oxidující železo a mangan, ale pochvu tvoří pouze kolem jedné buňky (*Naumanniella*, *Ochrobium*).
3. Bakterie ukládající pouze hydroxid železitý (*Siderococcus*).

Rod *Siderocapsa* má buňky sférického až ovoidního tvaru se společným pouzdem bez možnosti pohybu. Zbarvení buněk závisí na inkrustaci pochvy - přítomnost železa způsobuje rezavě-hnědé zbarvení, zatímco mangan až olivově zelené. Typickým místem výskytu jsou sladké vody. Mezi zástupce patří *Siderocapsa treubii*, *Siderocapsa major*, *Siderocapsa albergensis* a *Siderocapsa anulata* [15], [20].



Obrázek 10: Zástupci rodu *Siderocapsa* - a) *Siderocapsa treubii*, b) *Siderocapsa major*, c) *Siderocapsa albergensis*, d) *Siderocapsa anulata* [21]

Buňky rodu *Naumanniella* jsou tvaru tyček, které jsou zvláště opouzdřené a zabarvené do zlato-žluta. Často se izolují z vod chladných hlubokých studní nebo podzolové půdy. Druhovými zástupci jsou *Naumanniella neustonica*, *Naumanniella minor* nebo *Naumanniella catenata* [15], [20].

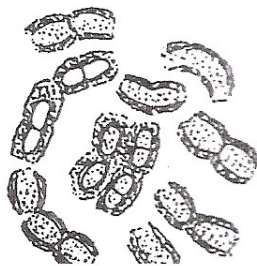


Obrázek 11: Zástupci rodu *Naumanniella* - a) *Naumanniella neustonica*, b) *Naumanniella minor*, c) *Naumanniella catenata* [21]

Bakterie rodu *Siderococcus* tvoří drobné kulovité malé kolonie o maximálním počtu 15 buněk. Velikost buňky je 0,2 – 0,5 μm . Pouzdra jsou tvořena pouze hydroxidem železitým a jsou přítomna výhradně u starých buněk. Vyskytují se ve vodách s teplotou

okolo 10°C. Dosud je popsán jediný druhový zástupce a to *Siderococcus limoniticus* [15], [20].

Bakterie rodu *Ochrobium* většinou tvoří buňky tyčinkovitého tvaru o velikosti 0,5 – 0,7 μm , a mohou se shlukovat do různých tvarů. Jedná se o pohyblivé bakterie, které svůj bičík protahují otevřeným koncem pouzdra. Žijí ve sladkých vodách chudých na kyslík, rod je dosud monotypický - *Ochrobium tectum* [15], [20].



Obrázek 12: *Ochrobium tectum* [21]

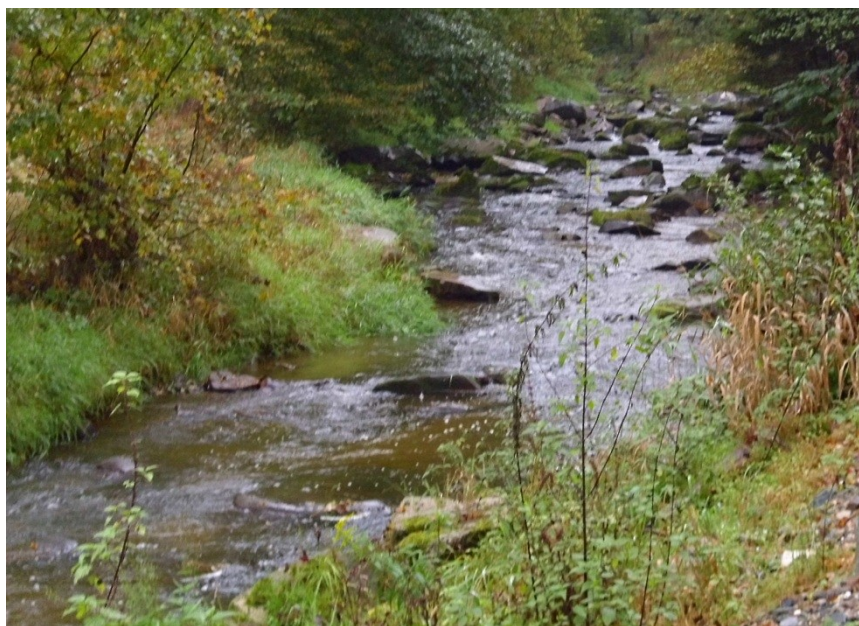
5. Experimentální část

Experimentální část byla zaměřena na kultivaci železitých bakterií ze tří druhů vod z různého prostředí. Byla prováděna v laboratořích institutu environmentálního inženýrství na Vysoké škole báňské – technické univerzity v Ostravě.

5.1. Hydrogeologická charakteristika

První vzorek vody pocházel z prostředí okolí města Vidnavy, z řeky Vidnavky. Samotná lokalita odebíraného vzorku leží u hranic s Polskem. Z geologického hlediska je tato oblast tvořena kvarterními sedimenty denudační oblasti, jež je charakteristická postupnou erozí a transportem sedimentů vodními toky. Lokalita patří k periglaciální zóně. Jsou zde zastoupeny převážně glacigenní sedimenty (hlíny, písky, jíly), recentní eolitické sedimenty (sprašové hlíny), neovulkanity a travertiny. Z ložiskové geologie jsou pro Vidnavu charakteristická naleziště kaolinu, břidlice a cihlářských surovin [23].

Půdní charakter okolí řeky Vidnavky je dán specifickými vlastnosti typů půd. Flufizem glejová, pseudoglej primární a kambizem. U všech tří typů půd je hodnota potenciálu náchylnosti k erozi mezi 3 – 4, tudíž riziko eroze je nízké [23].



Obrázek 13: Řeka Vidnavka (autorské foto)

Druhou oblastí, odkud byl odebíráán vzorek, jsou tzv. „Ostravské Benátky“ (areál vzniklý ve 20. letech 20. Století nacházející se uprostřed průmyslového města Ostravy v části Nová ves). Oblast „Ostravských Benátek“ rovněž patří ke kvarternímu geologickému charakteru, ale na rozdíl od Vidnavy se jedná o oblast akumulční, která je zastoupena velkými mocnostmi (do 50 m) kvarterních nezpevněných sedimentů. Jde o oblast charakteristickou důležitými ložisky černého uhlí [23].



Obrázek 14: „Ostravské Benátky“ (autorské foto)

Z hydrogeologického charakteru oblast Vidnavy patří do krystalinika severní části Východních Sudet (konkrétně jihovýchodní část) a „Ostravské Benátky“ se nachází v Ostravské pánvi, kde jsou průměrné roční srážky okolo 700 – 900 mm. Obě oblasti, jak Vidnavu, tak i „Ostravské Benátky“ tvoří kvarterní sedimenty, které mají dobrou akumulaci podzemních vod, ale bohužel nemají velkou kapacitu, tudíž neovlivňují odtok povrchové vody [13].

Třetí vzorek vody pochází z železorudného dolu Chrštenice barrandienské oblasti ležící v geologické jednotce Bohemikum. Těžba v dole Chrštenice byla ukončena již v roce 1965 a od roku 1995 je důl přístupný veřejnosti a nabízí expozici hornictví. Vrstvy v geologickém podloží dolu tvoří zejména jílovo-písčité sedimenty, ale v okolí se nachází také úlomky křemenců a limonitizované rudy. V okolí chrštenického dolu se nacházela

nejkvalitnější ruda tzv. skleněnka (40 % železa) obklopená makovkou (30 % železa), ale hlavním železonosným minerálem v této oblasti byl siderit [4].

Chrutenický důl se nachází v suché oblasti daleko od vodních toků, které tudíž nezasahují do vlastního vodního režimu dolu. Veškeré množství vody v dole závisí na průměrných ročních srážkách a také na rychlosti tání sněhu a vydatných deštích. K průvalům vody dochází tedy zřídka [4].

5.2. Kultivace železitých bakterií

Kultivace vzorků vod se prováděla na 4 různých živných médiích (3 tuhá a 1 tekuté médium).

První médium bylo selektivní médium pro stanovení Fe-bakterií. Na 250 ml destilované vody bylo potřeba 0,125 g síranu amonného $((\text{NH}_4)_2\text{SO}_4)$; 0,125 g dusičnanu vápenatého (NaNO_3) ; 0,125 g hydrogenfosforečnanu (di)draselného $(\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O})$; 0,125 g heptohydrátu síranu hořečnatého $(\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O})$; 2,5 g citranu sodného; 0,75 g síranu železnatého (FeSO_4) ; 0,5 g sacharózy, 0,25 g tryptózy a 5 g agaru.

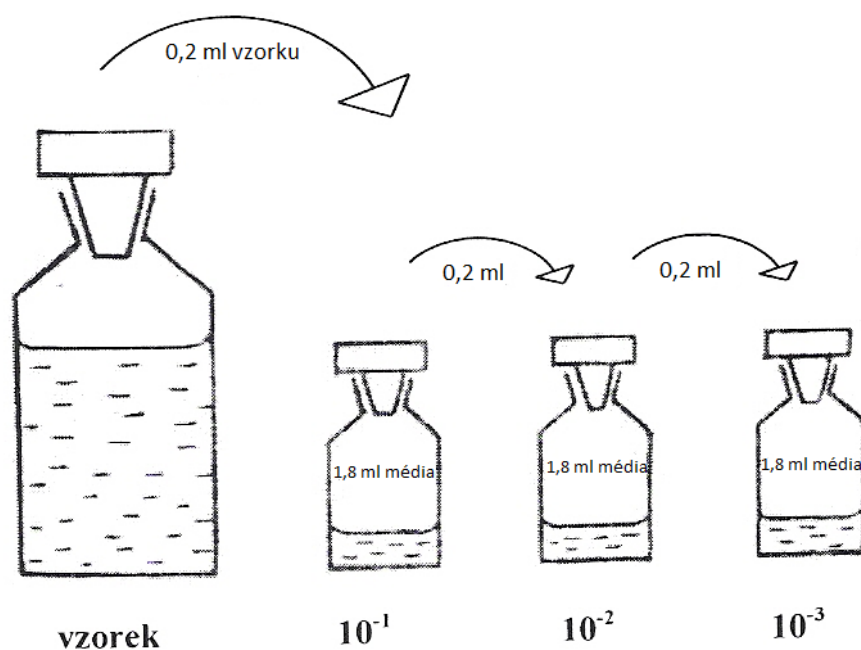
Druhým médiem bylo Isolační médium pro železité bakterie, složené ze směsi glukosy, síranu amonného $((\text{NH}_4)_2\text{SO}_4)$, dusičnanu vápenatého (NaNO_3) , hydrogenfosforečnanu (di)draselného (K_2HPO_4) , heptohydrátu síranu hořečnatého $(\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O})$, chloridu draselného (KCl) , uhličitanu vápenatého (CaCO_3) , kianokobalaminu, thiaminu a agaru. Na 250 ml destilované vody bylo potřeba 2,725 g této směsi.

Třetím médiem bylo medium pro kultivaci manganových bakterií MnHiVegTm Agar Base, tvořeno směsí HiVeg extraktu, kvasničního extraktu, uhličitanu manganatého (MnCO_3) , síranu železito-amonného $(\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O})$, citranu sodného a agaru. Na 250 ml destilované vody bylo potřeba 3,85 g směsi.

A čtvrté médium bylo tekuté a bylo tvořeno 0,25 g síranu amonného $((\text{NH}_4)_2\text{SO}_4)$; 0,25 g dusičnanu vápenatého (NaNO_3) ; 0,25 g hydrogenfosforečnanu (di)draselného $(\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O})$; 0,25 g heptohydrátu síranu hořečnatého $(\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O})$; 5 g citranu sodného, 1,5 g (FeSO_4) , 1 g sacharózy a 0,5 g tryptózy. Vše bylo doplněno 500 ml destilované vody.

U všech 4 médií byly veškeré ingredience smíchány v Erlenmayerových baňkách dohromady a v horké lázni zahřáty, aby došlo k jejich úplnému rozpuštění. Poté byly sterilizovány v autoklávu. První a čtvrté médium byly sterilizovány při 100°C po dobu 30 minut a druhé a třetí médium při 121°C po dobu 15 minut.

Tekuté médium bylo potřeba k prvotnímu naředění vzorků vody. Vzorky k anaerobní kultivaci se ředili až na 10^{-3} a k anaerobní kultivace pouze na 10^{-1} . Použito bylo 0,2 ml vzorku, ke kterému se přidalo 1,8 ml tekutého média.

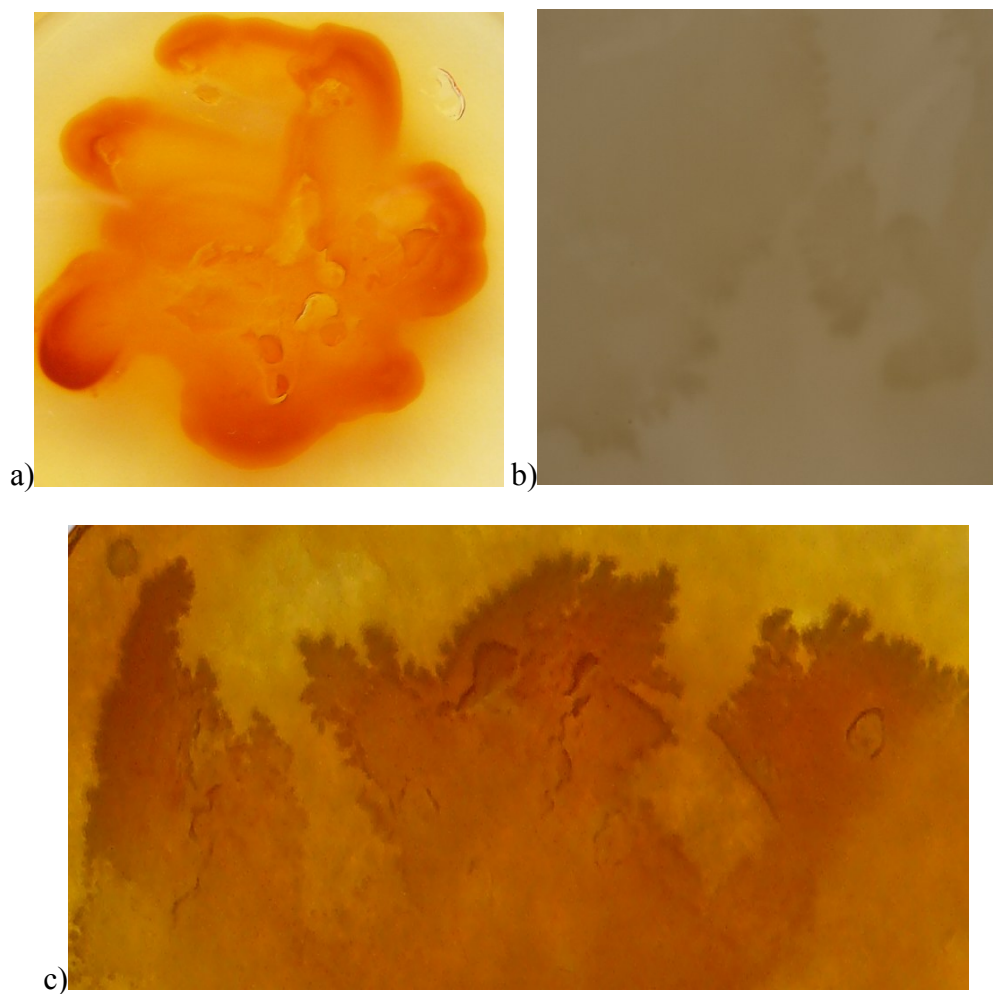


Obrázek 15: Postup při ředění vzorků [1]

Dále se 0,2 ml vzorku určeného k aerobní kultivaci, pomocí 1 ml pipety, přenesl na připravené média v Petriho miskách a rozetřel se po povrchu tuhého média pomocí sterilních Drigalskiho tyčinek. U anaerobních vzorků se nejdříve do Petriho misky odpipetovalo 0,2 ml vzorku, který se poté zalil tuhými médii a nechal se vychladnout. Petriho misky se ztuhlým médiem se nakonec přenesly do termostatu, kde při 38°C a po dobu 10 dní probíhala kultivace vzorků.

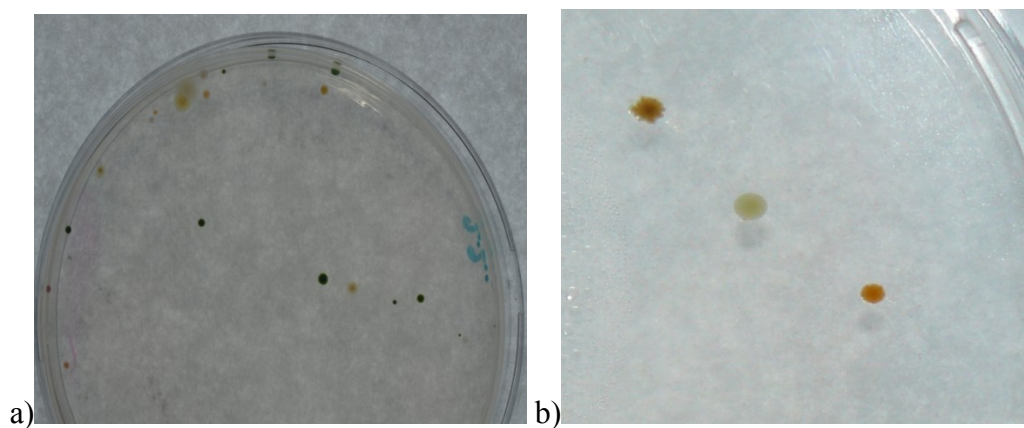
5.3. Výsledky experimentu

Po 10 dnech kultivace a porovnání růstu kolonií jednotlivých vzorků vody v každém médiu bylo zaznamenáno, že růst na prvním a třetím médiu je největší a vyskytují se zde velké plochy plazivé povahy a velké kolonie kruhového tvaru.



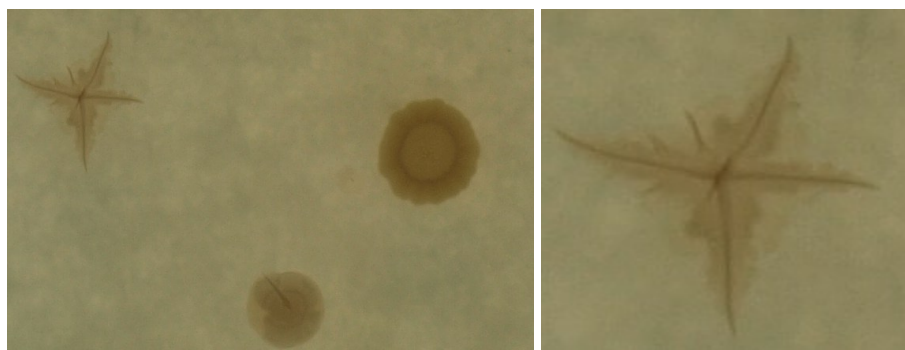
Obrázek 16: Plazivý růst bakterií - a) vzorek z „Ostravských Benátek“ v 1. médiu, b) vzorek z Vidnavky ve 3. médiu, c) vzorek z Vidnavky v 1. médiu (autorské foto)

Na druhém médiu byl růst malých kolonií, ale různorodých (oranžové, zelené, žluté).



Obrázek 17: Různorodost kolonií - a) vzorek z Vidnavky ředěný 10-2 ve 2. médiu, b) vzorek z „Ostravských Benátek“ ředěný 10-3 ve 2. médiu (autorské foto)

Asi nejzajímavějším se ukázal růst kolonie bakterií vzorku vody z Vidnavky na prvním médiu. Tvar kolonie připomínal hvězdicí.



Obrázek 18: vzorek anaerobní kultivace (Vidnavka) v I. médiu (autorské foto)

V porovnání růstu kolonií v Petriho miskách v závislosti na původu vzorku (viz tabulka č. 1) je zřejmé, že bakterie prvního vzorku (řeka Vidnavka) dokázaly růst na všech 3 typech médií, jak aerobní tak anaerobní kultivací (dohromady 14 Petriho misek).

Na druhém místě je vzorek z dolu Chrštenice (11 Petriho misek). Taktéž roste na všech druzích média, ale je vidět, že největší nárůst byl u 3. manganového média, kde vyrostly i anaerobní bakterie.

Poslední vzorky byly z lokality „Ostravských Benátek“, které měly prokazatelně největší růst u 2. Isolačního média pro železité bakterie. U ostatních typů médií bakterie rostly pouze z neředěného vzorku nebo z prvního ředění. Dohromady vyrostlo pouze 9 Petriho misek.

Tabulka 1: Závislost růstu bakterií na prostředí a na typu živného média

		VZOREK			
			I.	II.	III.
MÉDIUM	1. médium	anaerobní	neředěný, 10^{-1}	X	X
		aerobní	neředěný, 10^{-1}	neředěný,	neředěný, $10^{-1}, 10^{-2}$
	2. médium	anaerobní	neředěný	neředěný, 10^{-1}	X
		aerobní	$10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}$	$10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}$	neředěný, $10^{-1}, 10^{-2}$
	3. médium	anaerobní	neředěný, 10^{-1}	neředěný, 10^{-1}	neředěný, 10^{-1}
		aerobní	neředěný, $10^{-1}, 10^{-2}$	10^{-1}	neředěný, $10^{-1}, 10^{-2}$

Následně se podle počtu a charakteru kolonií připravili sterilní zkumavky a do každé jsme odpipetovali 5 ml tekutého média. Poté se pomocí sterilního nožíku vyřízly z tuhého média jednotlivé kolonie a přenesly se do zkumavek. Po dobu 7 dnů došlo ke kultivaci kolonií v tekutém médiu v termostatu při 38°C.



Obrázek 19: Kultivace vzorků v tekutém médiu (autorské foto)

Po proběhnutí kultivaci v tekutém médiu byly vzorky připraveny k barvicím metodám a k mikroskopování. Jako barvicí techniky bylo použito negativní a Gramovo barvení.

Metodu Gramova barvení vynalezl v roce 1884 Hans Christian Gram. Jedná se o jeden ze základních postupů diagnostického barvení bakterií, jež charakterizuje gramnegativní a grampozitivní bakterie na základě barvitelnosti buněčné stěny.

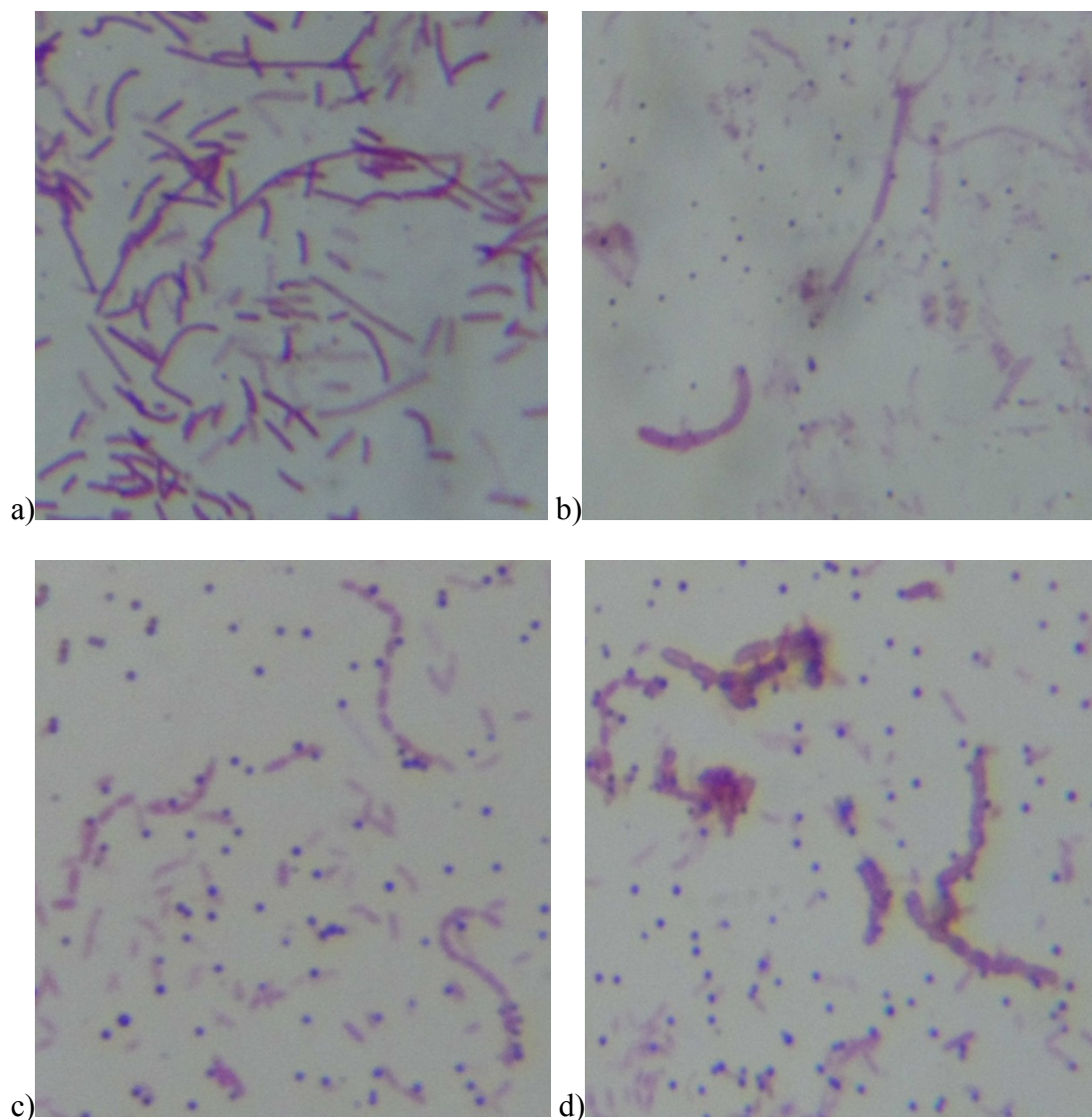
Nejprve se připravil fixovaný preparát. Do kapky destilované vody na podložním sklíčku se pomocí bakteriologické kličky vnesl a rozetřel vzorek vykultivovaný v tekutém médiu. To vše za dodržení všech mikrobiologických zásad práce v laboratoři. Poté byl preparát vysušen nad kahanem. Po zaschnutí se přistoupilo k samotnému postupu Gramova barvení.

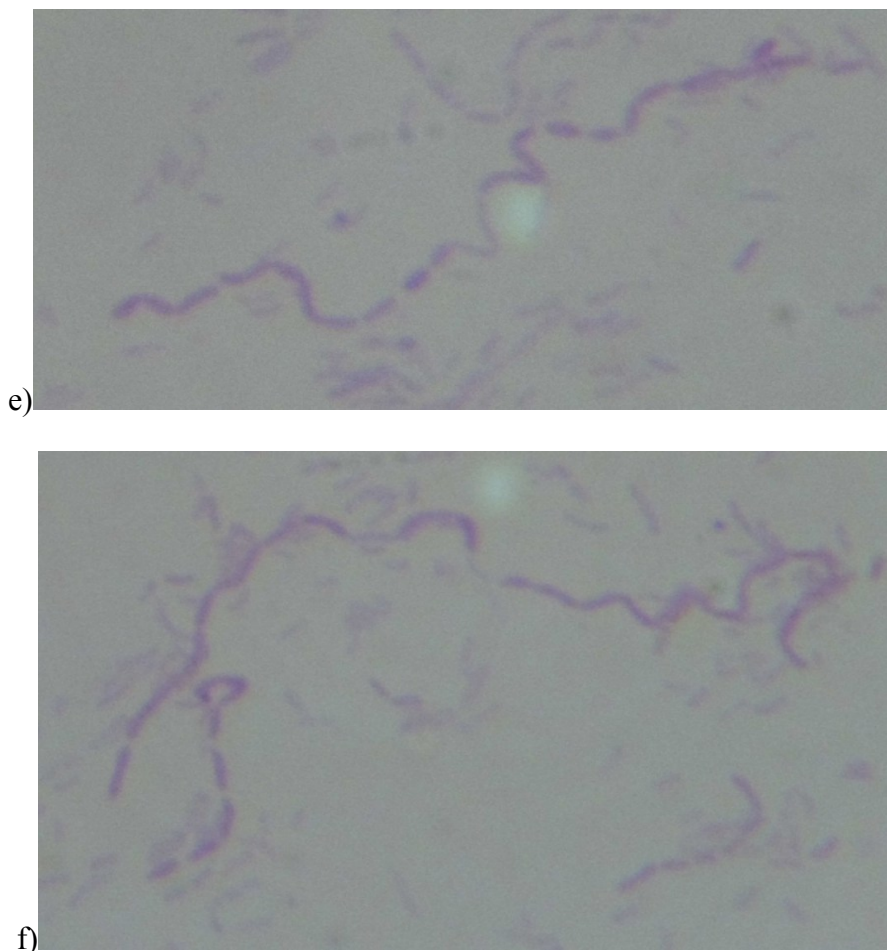
Jako první byl preparát překryt krystalovou violetí a po 1 minutě došlo k smytí violeti destilovanou vodou pomocí stříčky. Dále se nanese Lugolův roztok, který byl ihned opláchnut a aceton působící 25 sekund. Nakonec se přidal karbolfuchsin, jež byl po

uplynutí 1 minuty opláchnut destilovanou vodou. Takto vzniklé preparáty se nechaly na vzduchu usušit a následně bylo provedeno jejich mikroskopování.

Mikroskopování se provádělo pod imerzním objektivem. Železité bakterie se díky Gramovu barvení jeví jako červené tyčinky nebo řetízky.

Nejvíce vzorků bakterií tvořilo samostatné tyčinky nebo dlouhé řetízky za sebou spojených tyčinek.

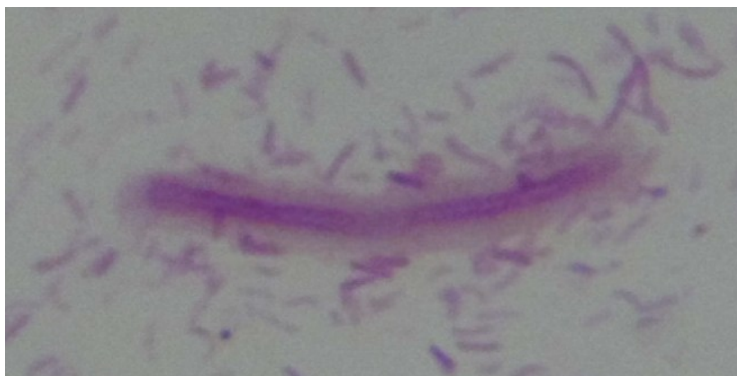




Obrázek 20: Gramovo barvení - tyčinkovité kolonie (autorské foto)

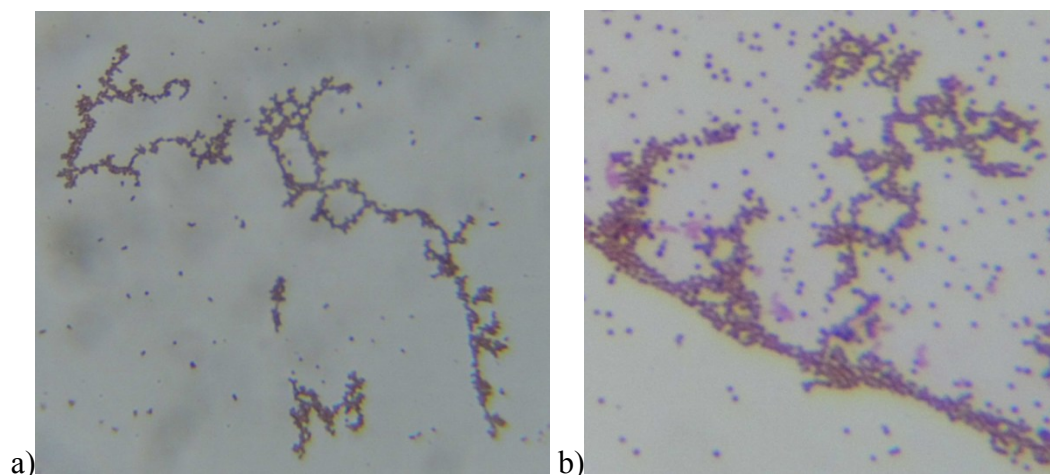
Na obrázku 19 a, b se jedná o bakterie anaerobní kultivace vzorku vody z Vidnavky, kdy a) je neředěný vzorek a b) je vzorek z prvního ředění. Jde o kultivaci v prvním selektivním médiu železitých bakterií. Obrázky 19 c až f znázorňují bakterie aerobní kultivace a to konkrétně vody z lokality dolu Chrštenice ve druhém médiu (Isolační médium pro železité bakterie). Rozdíl je v tom, že c) a d) jsou vzorky neředěné a e) a f) vzorky z prvního ředění.

U některých preparátů bylo možné vidět, jak je několik tyčinek schovaných v jedné společné pochvě. Na obrázku 20 je bakterie druhého ředění z lokality Chrštenice kultivovaná na pevném Isolačním médiu pro železité bakterie.



Obrázek 21: Gramovo barvené - tyčinkovité bakterie spojené v pochvě (autorské foto)

Ale také se zde objevily případy, kdy jednotlivé kolonie byly tvořeny rozmanitými a velmi rozlehlými řetízky. Na obrázku 21 a) jsou bakterie z řeky Vidnavky kultivované na Selektivním médiu (první ředění) a obrázek 21 b) znázorňuje bakterie z vody v „Ostravských Benátkách“ pěstované na manganovém médiu (druhé ředění).

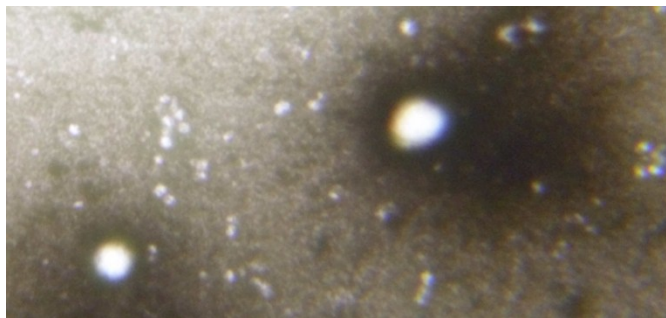


Obrázek 22: Rozmanitost řetízků (autorské foto)

Druhou metodou barvení je Burriho metoda. Jedná se o tzv. negativní barvení černou tuší, díky kterému se pod mikroskopem pozorují pouzdra nebo slizovité vrstvy bakterií. K provedení tohoto barvení je potřeba pouze dvou podložních sklíček, vzorku bakterií a černé tuše.

Na kraj čistého a odmaštěného podložního sklíčka se kápne jedna kapka tuše a 2 kapky destilované vody. Do vzniklého roztoku se pomocí bakteriologické kličky přidá vzorek bakterií a hranou druhého čistého podložního sklíčka se tato směs rozetře po celé ploše prvního skla. Takto vzniklý preparát se opět nechá usušit na vzduchu.

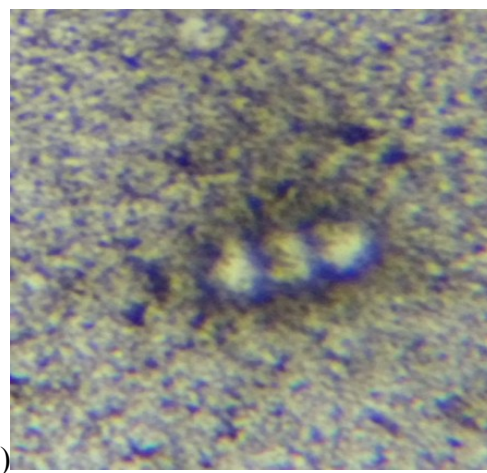
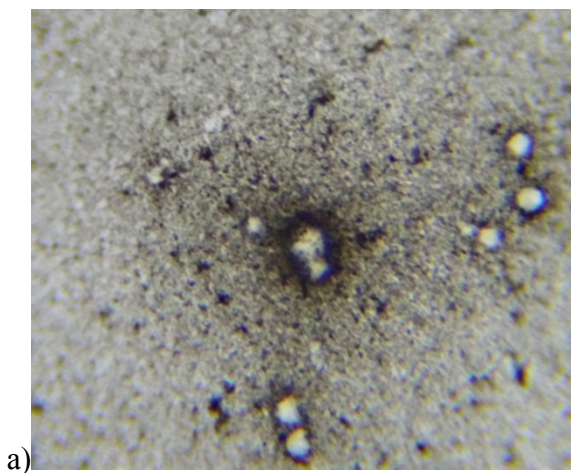
Mikroskopické pozorování připravených preparátů bylo prováděno pod objektivem se 40 násobným zvětšením a pod imerzním objektivem. Výsledný vzhled preparátů je takový, že samotná bakterie zůstává nezbarvená a barví se jen pozadí do černa.

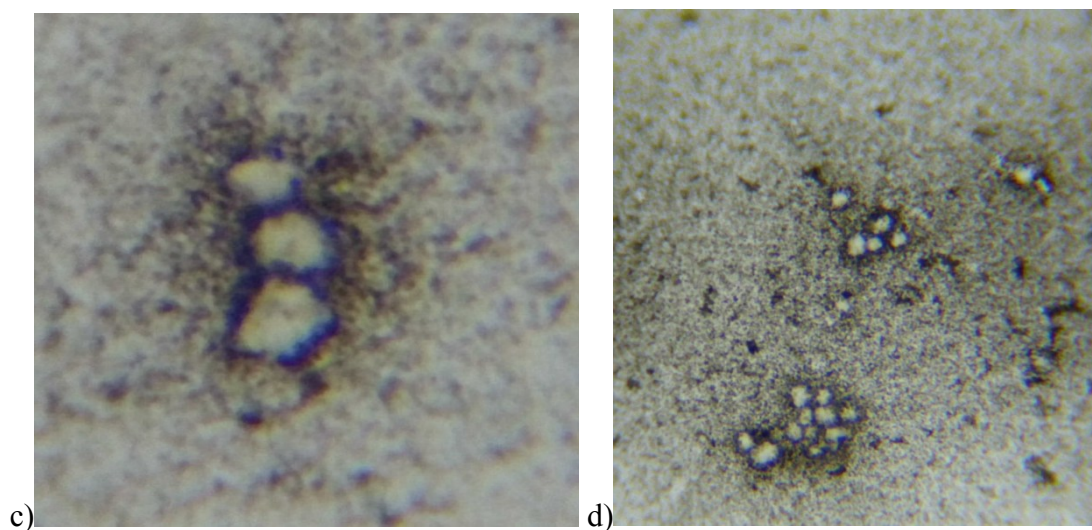


Obrázek 23: Negativní barvení - neřaděný vzorek z řeky Vidnavky (autorské foto)

U vytvořených preparátů se nejvíce objevovaly samostatné bakterie nebo zástupci druhů spojených pouzdry po třech. To se vyskytovalo převážně u anaerobních bakterií. Obrázek 23 a) tvoří anaerobní bakterie řeky Vidnavky v selektivním médiu, obrázek 23 b) je shluk anaerobních manganových bakterií opět z řeky Vidnavky a na obrázku 23 c) jsou taktéž anaerobní bakterie, avšak z „Ostravských Benátek“ z Isolačního média pro železité bakterie.

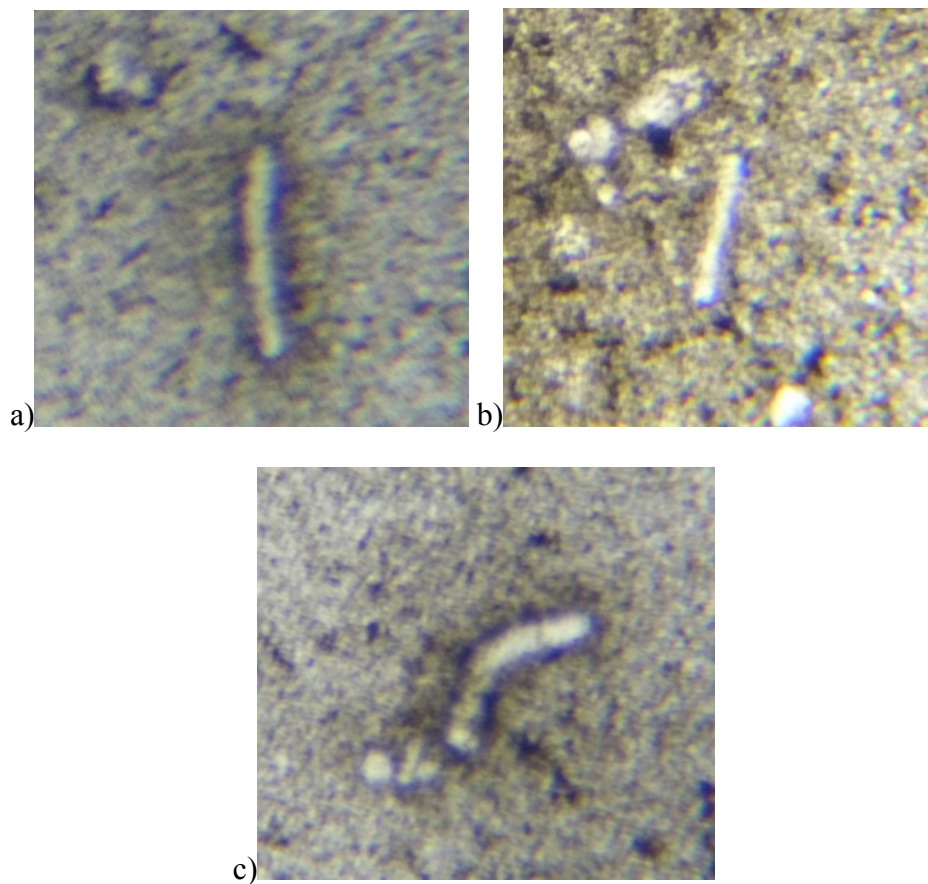
Ale jsou zde o zástupci bakterií, tvořící několika buněčné shluky. Konkrétně na obrázku 23 d) jde o manganové bakterie z řeky Vidnavky (první ředění).





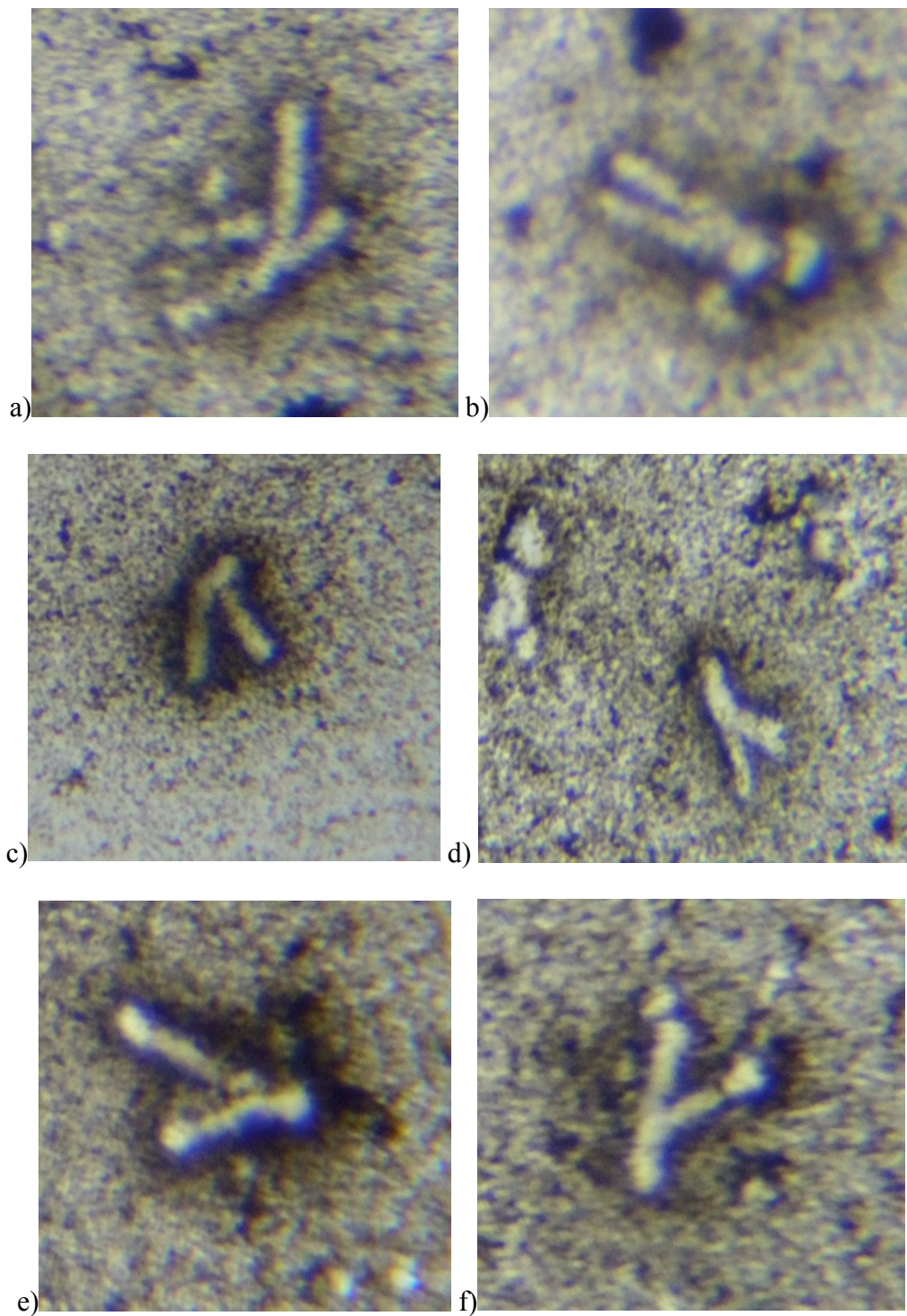
Obrázek 24: Negativní barvení - bakterie tvořící shluky buněk (autorské foto)

Dále byly mezi vzorky nalezeny i buňky tyčinkovitého tvaru. Jejich zástupci jsou bakterie z lokality „Ostravských Benátek“ kultivovaných na Selektivním médiu pro železité bakterie. (obrázek 24 a, b) a dále anaerobní manganové bakterie (obrázek 24 c)



Obrázek 25: Negativní barvení - tyčinkovité bakterie z lokality „Ostravských Benátek“ (autorské foto)

Nejpozoruhodnější zástupci metody negativního barvení byly bakterie, jejichž tvary buněk byly tvořeny dichotomickým větvením.



Obrázek 26: Negativní barvení - bakterie s dichotomickým větvením (autorské foto)

Byly to bakterie jak anaerobní tak aerobní kultivace. Vzorky řeky Vidnavky jsou zastoupeny obrázky 25 a, b, kdy a) je anaerobní bakterie (1. ředění) v selektivním médiu a b) bakterie aerobní (1. ředění) Isolační médium pro železité bakterie. U lokality „Ostravských Benátek“ (obrázek 25 c) se jedná o manganovou bakterii. A voda z dolu v Chrutenicích má opět aerobní i anaerobní zástupce na obrázku 25 d, e, f. – d) aerobní bakterie 2. média, e) a f) jsou charakterizovány manganovými anaerobními (e) a aerobními (f) bakteriemi.

5.4. Shrnutí výsledků a jejich diskuse

Z provedené kultivace železitých bakterií je zřejmé, že růst na živných médiích a jejich následné mikroskopické stanovení udává velké množství druhů železitých bakterií s jejich četnou morfoloickou rozmanitostí. Nachází se zde buňky tvaru koků přes tyčinky až po buňky s dichotomickým větvením.

Porovnáním všech tří druhů médií, selektivního média, isolačního média pro železité bakterie a manganového média, se zdá pro další kultivaci nejvhodnější isolační médium pro železité bakterie. Rostly zde bakterie ze všech vzorků vody v poměrně rozmanitém složení. Na rozdíl od ostatních dvou médií, se zde vyskytovaly malé kolonie mnoha druhů, lišících se od sebe zbarvením.

Ke kultivaci byly použity tři vzorky vod z odlišného prostředí, z čistého horského prostředí, z centra průmyslového města a z železorudného dolu. Z experimentálních pokusů vyplynulo, že nejvíce bakterií se vyskytuje ve vzorcích vody z železorudného dolu v Chrutenicích. Jak udává tabulka č. 2, bakterie rostly pouze na 11 Petriho miskách, ale narostly zde v počtu více jak 614 kolonií. Druhý vzorek s největším počtem kolonií byl vzorek řeky Vidnavky, ačkoliv tato oblast není zatížena průmyslem. Na 14 Petriho miskách zde dohromady vyrostlo více jak 286 kolonií. Jako poslední se umístil vzorek vody z „Ostravských Benátek“, který byl charakteristický oranžovým zbarvením, ale narostlo zde pouze 198 kolonií. Dále jsou v tabulce č. 2 červeně označeny kolonie, které byly charakteristické svým plazivým růstem. Růst zbytku kolonií měl charakter malých oválných tvarů.

Tabulka 2: Počet kolonií

			VZOREK (počet kolonií)			
			ředění vzorku	I	II	III
MÉDIUM	1. MÉDIUM	anaerobní	neředěný	3	x	x
			10 ⁻¹	2	x	x
		aerobní	neředěný	1	1	51
			10 ⁻¹	1	x	7
			10 ⁻²	x	x	2
			10 ⁻³	x	x	x
	2. MÉDIUM	anaerobní	neředěný	> 150	1	x
			10 ⁻¹	x	1	x
		aerobní	neředěný	61	x	> 150
			10 ⁻¹	1	92	64
			10 ⁻²	21	17	7
			10 ⁻³	20	7	x
	3. MÉDIUM	anaerobní	neředěný	4	1	67
			10 ⁻¹	2	1	61
		aerobní	neředěný	1	x	> 150
			10 ⁻¹	1	77	48
			10 ⁻²	18	x	7
			10 ⁻³	x	x	x

V experimentální části nebyla blíže určena druhová rozmanitost železitých bakterií, neboť zde byly bakterie určovány pouze na základě morfologické charakteristiky, která k přesnému určení taxonomie nestačí. Jednotlivé řady jsou charakterizovány podobnou morfologií, ale konkrétní druhy se od sebe liší dalšími vlastnostmi. Dalším z důvodů, proč nebylo uvedeno přesnější zařazení železitých bakterií, je dosud dostupnost dvou atlasů, Atlasu vodních organismů od A. Sládečkové a Výkladového slovníku od J. Ambrožové Říhové, které jsou také založeny především na morfologii bakterií. Proto je nutné morfologické charakteristiky doplnit o biochemické a genetické vlastnosti.

6. Závěr

Laboratorní experimenty prokázaly, že výskyt železitých bakterií není vázán na specifické ekologické prostředí, ale že se tyto bakterie vyskytují v nejrůznějších druzích vod. Nalezneme je ve sladkých pitných vodách, odkud se dostávají do vodovodního potrubí, v čisté horské přírodě nebo jsou součástí kyselých důlních vod. Jejich výskyt je dán obsahem značného množství železa ve většině vodních toků, kam se dostává v organické formě z rostlinných a živočišných tkání, ale nejčastěji díky vymývání horninového prostředí.

Úloha železitých bakterií v přírodě spočívá především ve vazbě rozpuštěných těžkých kovů, zejména iontů železa. Ve většině případů se spolu s železitými bakteriemi vyskytují také jiné bakteriální druhy, zejména bakterie manganové, které spolupůsobí při vzniku biokoroze na železných vodovodních potrubích a zařízeních.

Do budoucna je potřeba doplnit tematiku železitých bakterií o podrobnější fenotypovou charakteristiku na základě biochemických případně genetických vlastností, které by pak byly základem pro podrobnější taxonomii kultivovaných mikroorganismů.

K taxonomickému určení by mohlo být použito některých nových metod v diagnostice mikroorganismů, například by mohl být využit diagnostický systém MicroSystem BIOLOG III.

Použitá literatura

- [1] AMBROŽOVÁ, J.; *Mikrobiologie v technologii vod*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2007. 244 s. ISBN 978-80-7080-534-3
- [2] BENNER, S. G., BLOWES, D. W., HERBERT, J. B. Solid phase iron-sulfur geochemistry of a reactive barrier for treatment of mine drainage. *Applied Geochemistry*. 2000, vol. 15, no. , s. 1331-1343. ISSN 0883-2927.
- [3] BLOWES, D. W., JAMBOR, J. L., PTACEK, C. J., WEISNER, C. G. The Geochemistry of Acid Mine Drainage. *Treatise on Geochemistry* . Oxford: Elsevier. 2004, vol. 9. s. 149-204. ISSN 0-08-043751-6.
- [4] BOUCHAL, T., VOJTKOVÁ, H., ZÁVADA, J. Prvotní průzkum důlních vod železorudného ložiska (v tisku).
- [5] CULLIMORE, R. D.; McCANN, A. E. The identification, cultivation and control of iron bacteria in ground water. In SKINNER, Frederick A. and SHEWAN, J. M. (ed.). *Aquatic Mikrobiology*. London: Academic Press, 1977. Xii, 370 s. ISBN 0-12-648030-3
- [6] ČERNÍK, M. et al. *Geochemie a remediace důlních vod*. Praha: Aquatest, 2008. 252s. ISBN 978-80-254-2921-1
- [7] JOHNSON, B. D., HALLBERG, K. B. The microbiology of acidic mine waters. *Researching Microbiology*. 2003. vol. 154, s. 466-473. ISSN 0923-2508
- [8] KAPRÁLEK, F. *Fyziologie bakterií: celostátní vysokoškolská učebnice pro přírodovědecké fakulty*. Praha: Státní pedagogické nakladatelství, 1986. 608 s.
- [9] KAPRÁLEK, F. *Základy bakteriologie*. Praha: Karolinum, 2000. 241 s. ISBN 80-7184-811-5
- [10] KELLER, E. A. *Introduction to environmental geology*. New Jersey: Prentice Hall. Upper Saddle River, 2005. ISBN 0-321-72751-7
- [11] KITTNAR, E. HEJZLAR, M.; *Základy lékařské mikrobiologie: Bakteriální metabolismus - kultivace bakterií - genetika bakterií a virů*. Praha: Státní pedagogické nakladatelství, 1986. 114s.
- [12] KOPŘIVÍK, B. *Biologie vodních bakterií: učební text pro specializaci hydrobiology (podzemní vody)*. Olomouc: Univerzita Palackého, 1982. 171 s.
- [13] OLMER, M. et al. *Sborník geologických věd, hydrogeologie, inženýrská geologie, [Svazek] 23, Hydrogeologická rajonizace České republiky*. Praha : Česká geologická služba, 2006. 31 s. ISBN 80-7075-660-8

- [14] PAČES, T. *Chemické rovnováhy v přírodním systému voda – hornina – atmosféra*. Praha: Academia, 1972. 193 s.
- [15] ROSYPAL, S., HOĐÁK, K., MARTINEC, T., KOCUR, M. *Obecná bakteriologie*. Praha: Státní pedagogické nakladatelství, 1981. 749 s.
- [16] ROSYPAL, S., ROSYPALOVÁ, A. *Genetika bakterií a bakteriálních virů*. 2. vydání. Praha: Státní pedagogické nakladatelství, 1980. 272 s.
- [17] RŮŽIČKA, J. *Mikrobiologie pro technology životního prostředí*. Brno: vysoké učení technické, 1999. 124 s. ISBN 80-214-1374-3
- [18] RÝC, M., HEJZLAR, M. *Základy lékařské mikrobiologie: struktura a ultrastruktura bakterií a virů*. Praha: státní pedagogické nakladatelství, 1985. 128 s.
- [19] ŘÍHOVÁ AMBROŽOVÁ, J. *Skupina bakterií tvořících pochvy*. In Encyklopedie hydrobiologie: výkladový slovník. Praha: VŠCHT, 2007 [cit 2012-03-20]. Dostupný též z: http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-006/ebook.html?p=S016
- [20] SEDLÁČEK, I. *Taxonomie prokaryot*. Brno: Masarykova univerzita, 2007. 270 s. ISBN 80-210-4207-9
- [21] SLÁDEČEK, V., SLÁDEČKOVÁ, A. *Atlas vodních organismů se zřetelem na vodárenství, povrchové vody a čistírny odpadních vod. Destruenti a producenti, 1. díl*. Praha: Česká vědeckotechnická vodohospodářská společnost, 1996. 350 s. ISBN 80-02-01080-9
- [22] ŠILHÁNKOVÁ, L. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnology*. 3. vydání Praha: Academia, 2008. 363 s. ISBN 978-80-200-1703-1
- [23] Plán oblasti povodí Odry. POVODÍ ODRY, státní podnik. [online]. 2007. [cit. 2012-04-16]. Dostupné z WWW: <http://www.pod.cz/plan-oblasti-povodi-Odry/a-popis/a-popis.html>
- [24] Zákeřná koroze. Internetový časopis Oko [online]. [cit. 2012-04-19]. Dostupné z WWW: <http://oko.yin.cz/33/zakerna-koroze/>

Seznam tabulek a obrázků

<i>Tabulka 1: Závislost růstu bakterií na prostředí a na typu živného média</i>	27
<i>Tabulka 2: Počet kolonií</i>	36
<i>Obrázek 1: Koroze vodovodního potrubí [24]</i>	12
<i>Obrázek 2: Zástupci rodu Leptothrix - a) Leptothrix ochracea, b) Leptothrix sideropous, c) Leptothrix major, d) Leptothrix lopholea [21]</i>	15
<i>Obrázek 3: Leptothrix ochracea (soukromý archiv – Mgr. Hana Vojtková Ph.D.)</i>	15
<i>Obrázek 4: Sphaerotilus natans [19]</i>	16
<i>Obrázek 5: Zástupci rodu Crenothrix - a) Crenothrix fusca, b) Crenothrix polyspora [21]</i>	16
<i>Obrázek 6: Toxothrix trichogenes [21]</i>	17
<i>Obrázek 7: Clonothrix fusca [21]</i>	17
<i>Obrázek 8: Gallionella ferruginea (soukromý archiv – Mgr. Hana Vojtková Ph.D.)</i>	18
<i>Obrázek 9: Zástupci rodu Gallionella - a) Gallionella ferruginea, b) Gallionella minor, c) Gallionella maior, d) Gallionella filamenta [21]</i>	19
<i>Obrázek 10: Zástupci rodu Siderocapsa - a) Siderocapsa treubii, b) Siderocapsa major, c) Siderocapsa arlbergensis, d) Siderocapsa anulata [21]</i>	20
<i>Obrázek 11: Zástupci rodu Naumanniella - a) Naumanniella neustonica, b) Naumanniella minor, c) Naumanniella catenata [21]</i>	20
<i>Obrázek 12: Ochrobium tectum [21]</i>	21
<i>Obrázek 13: Řeka Vidnavka (autorské foto)</i>	22
<i>Obrázek 14: „Ostravské Benátky“ (autorské foto)</i>	23
<i>Obrázek 15: Postup při ředění vzorků [1]</i>	25
<i>Obrázek 16: Plazivý růst bakterií - a) vzorek z „Ostravských Benátek“ v 1. médiu, b) vzorek z Vidnavky ve 3. médiu, c) vzorek z Vidnavky v 1. médiu (autorské foto)</i>	26

<i>Obrázek 17: Různorodost kolonií - a) vzorek z Vidnavky ředěný 10-2 ve 2. médiu, b) vzorek z „Ostravských Benátek“ ředěný 10-3 ve 2. médiu (autorské foto).....</i>	<i>26</i>
<i>Obrázek 18: vzorek anaerobní kultivace (Vidnavka) v 1. médiu (autorské foto)</i>	<i>27</i>
<i>Obrázek 19: Kultivace vzorků v tekutém médiu (autorské foto)</i>	<i>28</i>
<i>Obrázek 20: Gramovo barvení - tyčinkovité kolonie (autorské foto)</i>	<i>30</i>
<i>Obrázek 21: Gramovo barvení - tyčinkovité bakterie spojené v pochvě (autorské foto)</i>	<i>31</i>
<i>Obrázek 22: Rozmanitost řetízků (autorské foto)</i>	<i>31</i>
<i>Obrázek 23: Negativní barvení - neředěný vzorek z řeky Vidnavky (autorské foto)</i>	<i>32</i>
<i>Obrázek 24: Negativní barvení - bakterie tvořící shluky buněk (autorské foto)</i>	<i>33</i>
<i>Obrázek 25: Negativní barvení - tyčinkovité bakterie z lokality „Ostravských Benátek“ (autorské foto)</i>	<i>33</i>
<i>Obrázek 26: Negativní barvení - bakterie s dichotomickým větvením (autorské foto)</i>	<i>34</i>